TRENTE-DEUXIÈME ANNÉE 1939 N° 7.

BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ

DE

PATHOLOGIE EXOTIQUE

ET DE SES FILIALES

SÉANCE DU 12 JUILLET 1939

PRÉSIDENCE DE M. E. ROUBAUD, PRÉSIDENT

CORRESPONDANCE

MM. H. BONNIN, J. PENNANEAC'H et P. ROSSI, élus membres titulaires aux élections dernières, adressent des lettres de remerciement à la Société.

COMMUNICATIONS

CONDITIONS DE CAPTURE DES LARVES DE DICTYOCAULES PAR DES HYPHOMYCÈTES PRÉDATEURS

Par R. DESCHIENS

On sait que des hyphomycètes des genres *Arthrobotrys*, *Dactylella* et *Dactylaria* sont capables de détruire les larves infectieuses de nombreux Nématodes de l'ordre des *Strongylata* Raillet et Henry, 1913.

Cependant l'action de ces champignons sur les Nématodes appartenant au sous-ordre des *Métastrongyloidea* (Métastrongylinés) bien que supputée, au moins pour certaines espèces, évoluant directement sans hôte intermédiaire nécessaire, n'avait pu encore être démontrée.

Des circonstances favorables nous ont permis d'étudier l'action d'*Arthrobotrys oligospora* et de *Dactylella bembicodes* sur *Dictyocaulus filaria* (Rudolphi, 1809), agent de la bronchite vermineuse du mouton et de la chèvre. On sait que cette infestation est fréquente chez les antenais, agneaux ou chevreaux, dont elle peut entraîner la mort par suffocation et cachexie.

Dispositions expérimentales.

Champignons prédateurs. — Les hyphomycètes introduits dans l'expérience ont pour origine des cultures d'*Arthrobotrys oligospora* et de *Dactylella bembicodes* entretenues et conservées au Laboratoire de Parasitologie de l'Institut Pasteur depuis 7 mois. Nous rappelons qu'*A. oligospora* forme des dispositifs capteurs en arceaux gluants anastomosés et que *D. bembicodes* élabore des appendices-pièges en « garrots ».

Dictyocaules. — Les larves de Nématodes utilisées dans l'expérience proviennent : 1° des mucosités spumeuses recueillies, à l'autopsie, dans les bronches d'une jeune brebis (mouton n° II) atteinte de strongylose bronchique, 2° des déjections d'un agneau

Fig. 1. — *Dictyocaulus filaria* au premier âge. Gr. 300.
(*Photomicrographie de* P. JEANTET).

Fig. 2. — Capture de *Dictyocaulus filaria* au premier âge
par *Dactylla bembicodes*. Gr. 80 diam. (*Photomicrographie de* P. JEANTET).

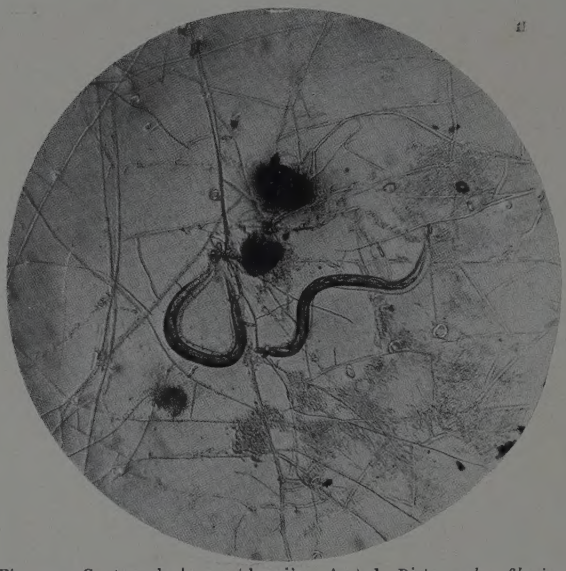

Fig. 1. — Capture de larves (deuxième âge) de *Dictyocaulus filaria* par *Dactylella bembicodes*. Gr. 73 diam. (*Photomicrographie de* P. JEANTET).

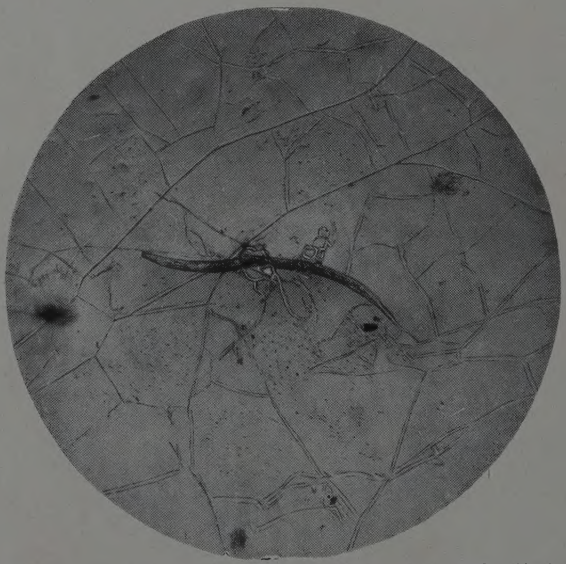

Fig. 2. — Capture de larves (deuxième âge) de *Dictyocaulus filaria* par *Arthrobotrys oligospora*. Gr. 73 diam. (*Photomicrographie* de P. JEANTET).

(mouton r° III) ayant succombé ultérieurement à une strongylose bronchique et broncho-pulmonaire (*).

L'autopsie de ces deux animaux a permis de préciser, par les caractères des adultes observés dans les bronches, que les larves de dictyocaules observées appartenaient à *Dictyocaulus filaria* (Rudolphi, 1809).

On sait que les embryons et les formes larvaires de ce dictyocaule se caractérisent, au premier âge (Pl. I, fig. 1), par la taille qui est de 500 à 550 μ × 20 à 25 μ, par l'existence d'un petit bouton céphalique et d'une queue conique, obtuse, et par la présence d'abondantes matières de réserve qui leur donnent un aspect opaque. Ces éléments qui mènent une existence libre dans l'eau ou la terre humide, sans prendre aucune nourriture, muent mais demeurent dans leur première enveloppe cuticulaire formant ainsi les larves de deuxième âge ; une seconde mue de la larve donne des larves au troisième âge enfermées dans une double gaine ; les larves se débarrassent bientôt de leur première cuticule qui est la plus externe et deviennent des larves infectieuses enkystées, mesurant de 550 à 600 μ × 25 à 30 μ.

Les formes du premier âge sont peu mobiles et présentent des attitudes en hameçon, en point d'interrogation, en anse, caractéristiques ; les formes du deuxième et du troisième âge sont très mobiles. L'évolution des dictyocaules peut être suivie à la température du laboratoire dans des cristallisoirs contenant un mélange de produits pathologiques et d'eau de fontaine, additionné ou non de fragments de charbon de bois ou de poudre de charbon végétal.

Technique. — Nous nous sommes servi, pour assurer le contact entre les champignons et les larves de Nématodes, de plaques de gélose à l'eau (gélose 15 g., eau 1.000 g.) découpées de logettes humides, suivant la technique de E. Roubaud et R. Deschiens (1) décrite antérieurement, et ensemencées avec *Arthrobotrys oligospora* et *Dactylella bembicodes*.

Lorsque les cultures de champignon couvraient la gélose, il était ajouté, dans les logettes, des formes larvaires de *Dictyocaulus filaria* à différents âges (20 à 30 formes larvaires par logettes).

Résultats expérimentaux.

Avec *Dactylella bembicodes*, la capture et la destruction des formes du premier âge est possible, malgré la faible motilité du

(*) Nous remercions M. Cauchemez, Chef du Service Vétérinaire du marché de la Villette, qui a eu l'amabilité de nous procurer les animaux malades utilisés dans ces recherches.

ver (Pl. I, fig. 2). Les larves du deuxième et du troisième âges, très mobiles sont facilement capturées et souvent par plusieurs garrots (Pl. II, fig. 1); dans tous les cas, la réaction du champignon est intense et précoce. La préhension des larves du deuxième et du troisième âge se fait le plus souvent par striction de la gaine par les garrots.

Avec *Arthrobotrys oligospora*; la réaction mycélienne est un peu plus tardive et moins intense; les formes larvaires du deuxième et du troisième âges sont néanmoins aisément capturées (Pl. II, fig. 2).

Conclusion

L'utilisation des Hyphomycètes prédateurs de larves de Nématodes, suivant les données de la méthode biologique antilarvaire déjà exposée dans nos communications précédentes, peut être envisagée comme moyen prophylactique dans la lutte contre la strongylose bronchique des ruminants, provoquée par les dictyocaules. Le développement abondant d'*A. oligospora* et de *D. bembicodes* sur le sol des prairies humides, sur l'herbe mouillée, dans les bourbiers et à la surface des flaques d'eau que nous constatons présentement au cours d'expériences pratiques dans la nature, rend vraisemblable une action efficace de ces champignons sur les larves de strongles dans les conditions de la vie rurale. Cette considération se trouve d'ailleurs renforcée par le fait que nous avons observé le développement de dispositifs capteurs au laboratoire, sur des carrés de prairies partiellement inondés et par le fait que nous avons constaté, dans les mêmes conditions, des captures de larves de Trichostrongylidés du mouton par ces appendices-pièges.

La recherche systématique de l'action des champignons prédateurs de Nématodes sur les larves des différents genres du sous-ordre des *Métastrongyloidea* paraît devoir être recherchée, en raison de l'existence chez certaines espèces de ce sous-ordre d'un cycle évolutif présentant un hôte intermédiaire obligatoire et en raison du comportement biologique variable que peuvent offrir les larves suivant les espèces auxquelles elles se rattachent.

Institut Pasteur. Service de Parasitologie.

Bibliographie

(1) E. Roubaud et R. Deschiens. — *C. R. Acad. des Sciences*, 1939, t. CCVIII, p. 245.

VACCINATION CONTRE LA PESTE BOVINE AVEC LE PARENCHYME TESTICULAIRE FORMOLÉ

Par R. Van SACEGHEM et CACCAVELLA

Dans une note parue dans les Comptes-Rendus de la Société de Biologie (1), l'un de nous, à la suite d'expériences faites, avait cru pouvoir conclure que la pulpe testiculaire de bovidés atteints de peste bovine pouvait constituer un vaccin contre cette maladie. Des expériences pratiquées au Camp de fabrication de vaccin antipestique de Sharubindi (Ruanda), sous la direction de l'Inspecteur Vétérinaire Morreau, semblaient confirmer cette manière de voir.

En 1934, Missenard et Zylbertal (2) signalent que les testicules des animaux atteints de peste bovine sont impropres à la préparation du vaccin antipestique formolé. Peu de temps après, Jacotot et Colson (3) relatent des expériences qui prouvent que la pulpe testiculaire de taurillons atteints de peste bovine ne possède qu'à un faible degré la propriété de vacciner contre la peste bovine. Ces auteurs ajoutent « si tant est qu'elle soit douée d'activité ».

Une fois pour toutes nous avons voulu établir la réelle valeur du tissu testiculaire provenant de bovidés atteints de peste bovine, en tant que vaccin. Les quelques expériences faites par l'un de nous en 1933 (Van Saceghem), par suite de circonstances du moment, n'avaient pu être faites que sur un nombre restreint de bovidés ; actuellement il a été possible de réaliser les expériences sur un lot important de bétail.

Tous les bovidés qui ont servi aux expériences furent des taurillons qui provenaient de mères qui n'ont pas eu la peste et n'ont pas été vaccinées contre cette maladie.

Nous avons vacciné un lot de quarante taurillons avec quatre vaccins différents que nous désignerons par les lettres : A. B. C. et D.

Les vaccins A. et C. sont des vaccins formolés faits avec du tissu testiculaire. A. provient d'un taurillon qui présentait des lésions avancées et se trouvait au 9e jour de l'infection expérimentale. Au moment où les testicules furent prélevés, l'animal avait 38° de température. Il avait présenté pendant plusieurs jours une forte fièvre.

C. provient de trois taurillons qui présentaient des lésions de peste et de la fièvre.

Les vaccins B. et D. sont des vaccins formolés faits avec des rate, poumon et ganglions lymphatiques.

B. provient du taurillon qui a fourni le vaccin A. D. provient des taurillons qui ont fourni le vaccin C.

Pour tous ces vaccins, la proportion de tissu est d'un volume pour trois d'eau physiologique formolée à 2 1/2 0/00 Les vaccins ont été utilisés 48 heures après leur préparation.

Avec chaque vaccin, nous avons inoculé dix taurillons qui ont reçu respectivement des doses croissantes de vaccin.

Quinze jours après la vaccination, les quarante taurillons ont reçu 1 cm^3 de sang pesteux virulent en injection sous la peau.

Voici les conclusions de l'expérience :

Nous avons pu constater que : sur les dix taurillons qui avaient été vaccinés avec le vaccin A., un n'a pas réagi à l'infection du virus pesteux, il était donc vacciné ; les neuf autres sont morts avec des lésions de peste et après avoir présenté des réactions thermiques.

Avec l'autre vaccin à base de parenchyme testiculaire, le vaccin C., nous avons constaté que : sur les dix taurillons qui avaient reçu le vaccin, deux n'ont pas réagi à l'injection du virus, un autre a eu une réaction thermique pendant quatre jours. Ces trois taurillons peuvent être considérés comme ayant été vaccinés. Par contre, les six autres sont morts de la peste.

Les vaccins B. et D. à base de rate, poumon et ganglions, nous ont donné des vaccinations avec ou sans réactions thermiques constatées à la suite de l'inoculation du virus pesteux.

Nous n'avons constaté qu'une seule défaillance du vaccin, chez un taurillon qui avait reçu 5 cm^3 du vaccin D.

Nos expériences prouvent également qu'il est indifférent lors de la préparation du vaccin formolé antipestique de prélever les organes soit chez un animal qui se trouve à la période initiale de l'affection et qui ne présente que des lésions discrètes, soit d'un animal qui se trouve à une période avancée de la maladie.

Ces conclusions confirment celles de Missenard et Zylbertal qui ont également constaté (4) que le vaccin formolé antipestique, préparé avec des organes de veaux qui se trouvent dans la dernière période de la peste (période diarrhéique), est aussi efficace que le vaccin préparé avec des organes de veaux qui sont à la première période de la maladie.

Un mois après l'inoculation du virus pesteux, tous les animaux qui ont survécu à l'inoculation de sang pestique ont été à nouveau inoculés avec une nouvelle dose de 10 cm^3 de sang virulent. Aucun d'eux n'a présenté la moindre réaction.

Conclusions

Le tissu testiculaire formolé provenant de taurillons atteints de peste bovine peut constituer un vaccin contre la peste bovine. Pourtant, les vaccinations obtenues donnent un pourcentage tellement minime que l'on ne peut conseiller l'emploi du parenchyme testiculaire dans la préparation du vaccin formolé contre la peste bovine.

Laboratoire Vétérinaire de Kisenyi Ruanda.
Camp de Tare Ruanda.

Bibliographie

(1) Van Saceghem. — *C.-R. Soc. Biol.*, t. CXIII, p. 1539.
(2) Missenard et Zylbertal. — *Rec. Méd. Vét. Exot.*, t. VII, janv.-mars, 1934, p. 5.
(3) Jacotot et Colson. — *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. XXVII, p. 921.
(4) Missenard et Zylbertal. — *Rec. Méd. Vét. Exot.*, t. VII, p. 5.

SUR UN CAS DE FIÈVRE TYPHO-EXANTHÉMATIQUE OBSERVÉ A LA GUADELOUPE

Par A. JOLLY et DI RUGGIERO

Des cas de fièvre typho-exanthématique sporadiques ont été déjà décrits dans nombre de pays tropicaux et ils restent la plupart du temps difficiles à classer au point de vue nosographique.

Le cas, rapporté ci-après, qui a été observé au mois de juin 1938 à Pointe-à-Pitre met en présence de cette même difficulté. Il a paru cependant intéressant à relater car c'est la première fois que des examens de contrôle bactériologique ont pu être pratiqués sur de tels malades.

Cette affection paraît d'ailleurs très rare en Guadeloupe, aucune publication n'en a été faite et l'on n'en trouve trace que par des renseignements recueillis oralement.

Observations. — Mme X..., âgée de 35 ans, demeurant à Pointe-à-Pitre, revenant d'un séjour à la campagne d'une quinzaine de jours, a été prise brusquement d'un frisson intense avec fièvre à 38°9 puis 39° *le 2 juin 1938* au matin après une journée de malaise. Cet état fébrile était accompagné de céphalée et rachialgie intense, de photophobie et de congestion légère des conjonctives ; *la gorge montrait une rou-*

geur diffuse sans réaction ganglionnaire. L'énanthème buccal plus prononce le lendemain s'estompa en quelques jours.

Le ventre est souple, pas de diarrhée ni vomissements ; la rate est percutable non palpable, le foie n'est pas douloureux ; il n'y a pas d'ictère.

Cependant on pense au paludisme et la malade reçoit 1 g. 50 de quinine par jour du 2 au 4 juin sans que la fièvre qui s'est maintenue à 40° ne cède le moindrement.

Le 4 juin, un examen de sang est demandé qui ne montre *aucun hématozoaire.*

Taux d'hémoglobine : 70 0/0.

Numération globulaire :

Globules rouges	4.060.000
Globules blancs.	7.940

Formule leucocytaire :

Poly-neutrophiles	67
Poly-éosinophiles	1
Lymphocytes	18
Moyens mononucléaires . . .	8,5
Grands mononucléaires . . .	5,5
	100

La malade est prostrée, d'aspect typhique, mais aucune localisation lésionnelle ne peut être décelée. Le *7 juin, une hémoculture* est pratiquée (température 40°). Cette hémoculture restera stérile.

Ce jour même, c'est-à-dire le 5e jour de la maladie, on constate l'apparition d'une *éruption exanthématique papulo-nodulaire* formée d'éléments arrondis, surélevés, séparés, de teinte rouge foncé, quelques-uns d'aspect pétéchial, de la grosseur d'une lentille, disséminés sur la poitrine, les flancs, les bras, avant-bras, paumes des mains, cuisses, jambes surtout dans la région malléolaire, dos du pied et face interne de la plante du pied. Par contre l'éruption respecte le cou, la nuque et la face.

La gorge est rouge, surtout au niveau de l'amygdale droite qui est légèrement gonflée.

La température s'est, depuis le début de la maladie, maintenue entre 39°5 et 40°2 ; la prostration est intense, céphalée très pénible persistante, photophobie, délire et un certain degré de méningisme.

Ces symptômes se maintiennent les jours suivants.

Le 11 juin, de nouveaux prélèvements de sang sont faits en vue de la *réaction de Weil-Félix.*

A ce moment l'éruption exanthématique s'estompait, mais la fièvre et la prostration persistèrent jusqu'au 20 juin (18 jours).

La réaction de Weil-Félix pratiquée avec 4 souches différentes de *Proteus* X19 donna les taux d'agglutination suivants :

Proteus X19	Kingsbury O	= + au 1/1.000 (lecture macroscopique).
»	Kingsbury H	= + au 1/100.
»	Metz	= + au 1/50.
»	Syrie	= négative.

Le taux relativement élevé d'agglutination par certaines souches de *Proteus* X19 apporte un élément de plus au diagnostic de fièvre typho-exanthématique.

Le même jour trois cobayes mâles sont inoculés avec le sang de la malade :

Cobaye n° 67 reçoit 1 cm³ sang voie intrapéritonéale
» n° 68 » 1 cm³ » intrascrotale
» n° 69 » 1 cm³ sérum voie intrapéritonéale.

Ces animaux présentèrent tous, à partir du 5e jour, une légère élévation thermique à 38°9 qui dura 3 semaines, mais sans autre réaction générale et sans périorchite — *rapprochant ainsi l'infection en cause de la fièvre boutonneuse* dont le virus n'est pas pathogène pour le cobaye.

Le 25 juin, cinq jours après la défervescence complète, une nouvelle épreuve de Weill-Félix fut pratiquée donnant les résultats suivants :

Proteus X19 Kingsbury O = + 2.500 (lecture macroscopique)
» Kingsbury H = 0
» Metz = 0
» Syrie = 0

Cependant les épreuves de contrôle montrent que la souche Kingsbury O a tendance à s'agglutiner spontanément *à la lecture microscopique*, ce qui ne permet pas d'être affirmatif sur le taux réel de l'agglutination spécifique.

Ainsi chez cette malade le syndrome typho-exanthématique classique s'est-il manifesté d'une façon très typique : cliniquement par son début brusque, la haute ascension thermique en plateau durant deux septennaires et se résolvant par une chute en lysis rapide ; par son exanthème maculo-nodulaire à tendance pétéchiale apparu le 5e jour et envahissant tout le corps sauf la face et le cou ; par la prostration, le tuphos et le délire très marqués. Bactériologiquement le diagnostic est confirmé par la négativité de l'hémoculture et par l'agglutination positive au *Proteus* X19.

L'absence de pouvoir pathogène marqué pour le cobaye et la moyenne intensité de la réaction de Weill-Félix font rapprocher cette affection des fièvres exanthématiques à tiques qui ont été décrites sous différents noms suivant les pays où elles ont été observées.

L'absence d'escarre d'inoculation doit faire soupçonner que l'agent vecteur a plutôt été une larve d'Ixodidé dont les représentants sont très nombreux dans la campagne guadeloupéenne (*Hyalomma marginatum*, *Amblyomma variegatum*, *Amblyomma cayennense*).

L'infection de la malade a dû se faire pendant les 15 jours qu'elle passa à la campagne avant le début de sa maladie.

Conclusion. — Nous signalons pour la première fois un cas de

fièvre exanthématique que nous rapprocherions de la fièvre boutonneuse, causée vraisemblablement par un des Ixodidés très répandus à la Guadeloupe.

Travail du Laboratoire d'Hygiène et de Bactériologie de la Guadeloupe.

A PROPOS DE TROIS CAS DE LYMPHOGRANULOMATOSE BÉNIGNE OBSERVÉS CHEZ DES EUROPÉENS AU CAMEROUN

Par P. QUEINNEC et J. MAUZÉ

Nous avons eu l'occasion de diagnostiquer et de traiter, depuis le 1er janvier 1939, 3 cas de maladie de Nicolas et Favre authentiques, chez des Européens hospitalisés à l'Ambulance Européenne de Douala. En voici les observations :

Observation I. — M. Y.... âgé de 19 ans, sujet espagnol, né à Barcelone, planteur, entre à l'Ambulance Européenne le 14 mars 1939 avec le diagnostic clinique succinct d'adénite inguinale droite.

A l'examen on se trouve en présence d'un malade amaigri, très asthénié, au teint terreux, marchant difficilement. Sa température atteint, au moment de l'hospitalisation, 38°2 le matin, 39°4 le soir. Interrogé, il raconte que son adénite remonte à environ 2 mois, il n'y a tout d'abord pas fait attention ; puis continuant à vaquer à ses occupations, à courir dans les plantations, l'adénopathie a augmenté de volume et est devenue tellement douloureuse qu'il ne peut plus marcher. Par ailleurs il se sent plus fatigué et commence à s'inquiéter de son état. C'est un vieux colonial malgré son jeune âge : il a vécu en Guinée Espagnole, à l'île de Fernando-Po ; il est en Afrique depuis 7 ans.

L'adénopathie est exclusivement localisée à l'aine droite, il s'agit d'une masse dure, adhérente, du volume d'un bel œuf de poule, peu douloureux à la pression. On ne note pas de chaleur à son niveau. Nous pensons à une lymphogranulomatose bénigne. Une ponction de l'adénite est pratiquée, d'où l'on retire un pus épais très lié, que l'examen microscopique montre comme étant amicrobien, l'ensemencement est négatif.

Le 15, une intradermo-réaction avec un réactif de Frei, souche 176 de l'Institut Pasteur de Paris, est pratiquée à la cuisse droite. Le 16, la réaction de Frei est nettement positive, elle dure les 17 et 18.

A partir de ce jour le malade reçoit en 15 jours, 6 ampoules d'anthiomaline de 2 cm³. Il sort de l'hôpital le 19 mars 1939, sur sa demande, déjà amélioré par 2 injections de cette médication et le repos. Il reçoit les 4 autres à son domicile. Après 1 mois, il est complètement guéri et plus rien ne paraît de son adénite. La température qui avait atteint 39°8 le 17 au soir était tombée le 18 au matin à 37° et est restée normale. Par ailleurs l'examen des autres appareils n'avait rien révélé de particulier.

Observation II. — Le sergent d'infanterie coloniale C..., 36 ans, ayant 2 ans de séjour, entre à l'Hôpital Européen le 25 mars 1939. Son bulletin d'hospitalisation porte la mention : adénite inguinale suppurée gauche. Sa température est à 38°. Il est très fatigué, ne se déplace qu'avec difficulté. On se trouve en présence d'une adénite inguinale gauche suppurant par un pertuis constamment désinfecté par le malade lui-même. Elle a le volume d'un gros œuf de pigeon, à son niveau la peau n'est pas chaude, la masse ganglionnaire n'est pas mobile. Le malade raconte que le début de l'affection remonte à 1 mois. Lui non plus n'a pas voulu arrêter ses occupations et c'est la douleur à la marche qui l'a conduit à la consultation. Une ponction aseptique est pratiquée, elle permet de retirer un pus très épais qui se révèle à l'examen amicrobien ; ensemencé, il ne donne aucun germe.

Le 26 nous pratiquons une réaction de Frei avec la souche 176 de l'Institut Pasteur de Paris ; elle est fortement positive le 27 et dure trois jours.

Du 25 mars au 12 avril, le malade reçoit 10 injections de 2 cm³ d'anthiomaline, et une injection de 0,90 de novarsénobenzol. Il sort le 13 avril avec 8 jours de repos, au bout desquels, à la visite, on constate qu'il reste une petite tumeur très dure, du volume d'un pois, indolore, tumeur qui subsiste encore 1 mois 1/2 après et qui ne gêne nullement le malade. Un examen de selles au cours de l'hospitalisation avait montré des œufs de trichocéphales, les urines étaient normales, le sang ne présentait pas de parasites. La température était redevenue normale dès le 28 au matin.

A partir du pus retiré par ponction aseptique le 27, nous avons préparé un antigène de Frei qui fut utilisé, comparativement avec la souche 176 de l'Institut Pasteur, sur le cas suivant et qui s'est montré un peu plus actif que ce dernier. Essayé sur 2 cas indigènes, il a donné le même résultat ; les 2 souches donnèrent un Frei négatif dans un cas douteux, où l'on diagnostiqua plus tard une adénite à bacilles de Ducrey.

Observation III. — M. B..., d'origine polonaise, âgé de 37 ans, en Afrique depuis 5 ans, entre à l'Ambulance le 24 avril 1939 avec le diagnostic de lymphogranulomatose inguinale double.

C'est un homme très amaigri, pâle, anémié, qui raconte qu'il a ces ganglions depuis 3 ou 4 mois. Vivant de la charité de ses compatriotes depuis quelques mois, il ne s'est pas soigné et s'est décidé lui aussi à consulter parce qu'il ne peut plus se déplacer.

L'examen révèle la présence de deux masses ganglionnaires, dures, du volume d'une grosse noix, situées dans les aines. Elles sont adhérentes, peu douloureuses au palper. On ne note pas de température locale. La température générale est à 37°3. Pour confirmer le diagnostic clinique, on pratique une réaction de Frei avec 2 souches : souche 176 de l'Institut Pasteur et souche locale préparée à partir du cas précédent. Le 25 avril les 2 réactions sont très positives et se sont prolongées les 26 et 27 ; la souche locale a donné une réaction plus forte, marquée par une rougeur plus intense. Un examen du sang a montré la présence de quelques schizontes de *præcox*, le taux d'hémoglobine était à 70 o/o, le nombre de globules rouges à 4.800.000, celui des globules blancs à 5.500.

Les selles et les urines sont normales.

Du 25 avril au 4 mai le malade reçoit 5 ampoules de 2 cm³ d'anthiomaline et 4 ampoules d'acétylarsan. Il sort le 5 mai, absolument guéri, n'ayant plus aucune trace de son adénopathie.

De ces trois observations, nous rapprocherons 2 cas diagnostiqués cliniquement par l'un de nous l'an dernier, chez des Européens. L'examen des pus les avait révélés amicrobiens et l'anthiomaline eut une action certaine sur la guérison qui est survenue en 25 jours dans le premier cas, en 10 jours dans le second.

L'absence de réactif de Frei ne permit pas de faire les intradermo-réactions.

Cette communication n'a d'autre but que de montrer qu'il existe, au Cameroun, des cas de maladie de Nicolas et Favre indubitables chez les Européens, que l'anthiomaline a une action certaine et rapide sur leur évolution, qu'il y a intérêt à préparer, lorsque cela se peut, des souches locales de réactifs de Frei. La contamination vénérienne à partir de femmes indigènes est, à n'en pas douter, à l'origine de ces observations. Nous n'avons pu déceler de porte d'entrée. Actuellement du réactif de Frei a été distribué dans quelques postes de la brousse, la réaction permettra de déceler chez les Indigènes cette affection dont le diagnostic différentiel avec d'autres affections ganglionnaires observées aux Colonies est quelquefois difficile à poser avec la clinique seule.

ABCÈS DU FOIE ET SEPTICEMIE A COLIBACILLES

Par P. HUARD

Observation. — *Abcès multiples du foie. Perforation de la vésicule. Septicémie à colibacilles. Mort.*

Le tirailleur H... provenant de Dap-Cau, entre à l'hôpital de Lanessan le 25 février 1939 à 18 heures pour hématémèse. Depuis une semaine environ, il aurait présenté de la température et, la veille de son admission à l'hôpital, du mœlena à deux reprises. Il est évacué pour ulcus gastro-duodénal. Le malade profondément anémié présente un teint subictérique. Il est asthénique mais ne paraît pas souffrir beaucoup. Le pouls est rapide, mais bien frappé. L'absence totale de toute contracture, une fièvre à 39° font éliminer la possibilité d'une perforation ulcéreuse. Une radiographie immédiate sans préparation est négative. Le foie est cependant un peu gros. On se borne à faire l'association laustine-laroscorbine et à « glacer » le malade, placé sous surveillance constante.

Le lendemain, le subictère est plus frappant et donne à la maladie un cachet hépatique. On décèle très difficilement un point douloureux hépatique postérieur. Une ponction du foie pratiquée le même jour reste négative mais améliore passagèrement l'état général du malade et fait tomber la température de 40°5 à 37°5. Le sang est rosé laqué très anormal Dans les jours qui suivent, la ponction, la température remonte progressivement. L'allure septicémique s'avère de plus en plus grave.

Les différents examens de laboratoire donnent les renseignements suivants. Weil Félix : agglutination partielle à 1/300 cm³, au *proteus* X^{19} et X^{12}. T. A. B. : négatif. Pas d'hématozoaires. Formule leucocytaire : Poly-neutro 70 ; Eosino 1 ; Lympho 14 ; Moyen mono 12 ; Grand mono 3. Taux d'hémoglobine 40 o/o. Globules rouges 2.996.000 ; Globules blancs 21.600. Urée sanguine 0,48 ; Glycémie 1,05.

L'hémoculture montre la présence de colibacilles.

Le 2 mars 1939, l'examen clinique révèle la présence d'une zone mate à la percussion, occupant toute la base pulmonaire droite. Les vibrations thoraciques y sont complètement abolies. A la radio, on constate une augmentation de volume du foie et l'hémi-diaphragme droit est surélevé et presque immobile. Au niveau du bord inférieur du foie, une voussure anormale est en faveur d'un abcès. Un quart d'heure environ après la prise de radio, quand le malade est déjà dans son lit, il éprouva subitement une douleur brutale, véritable coup de poignard dans le creux épigastrique. L'état devient très sévère. Le malade est pâle et respire très superficiellement : il est couvert de sueur et les extrémités sont froides. Le pouls est petit et filiforme. Il existe une légère contracture de la paroi au creux épigastrique.

L'intervention s'impose mais ne peut se réaliser à cause de l'état tout à fait précaire du malade qui est fortement shocké. Après avoir combattu l'état de shock et remonté l'état général par les différents toni-cardiaques et une transfusion sanguine, une ponction exploratrice sous-hépatique est faite le lendemain. Elle ramène des gaz.

Sous anesthésie générale éther, laparatomie paramédiane droite. Estomac et duodénum normaux. Vésicule visible. A la face inférieure du foie, tuméfaction inflammatoire qui se rompt au toucher en donnant un verre de pus noir, mal lié, gazeux, à odeur putride. Aspiration. Mickulicz. Fermeture en un plan au fil de fer. Nouvelle transfusion sanguine (200 cm³). Le pus renferme des streptocoques et des colibacilles à la culture. Pas d'amibe à l'examen direct, mais présence de quelques œufs d'ascaris.

Malgré le traitement anticolibacillaire intensif (sérum de Vincent, bacté-coliphage intraveineux), l'état général du malade baisse de jour en jour. Le malade succombe le 8 mars, après avoir fait encore un important mœlena au cours duquel il expulse quelques ascaris.

L'autopsie donne les résultats suivants :

Cerveau : très congestionné, 1 kg. 600.

Poumons adhérents à la paroi antérieure. Poumon droit : 850 g. Poumon gauche : 600 g. Très fortement congestionnés par endroits.

Cœur : 350 g. Adhérences molles du péricarde (réaction à un foyer hépatique gauche).

Foie : 1 kg. 750 avec un abcès gauche extériorisé sous le diaphragme et une cholécystite perforée putride, drainée par un Mickulicz. Le foie contient plusieurs autres abcès et des zones infarcies.

Rate : 150 g.
Reins : droit = 140 g. ; gauche = 170 g.
Pancréas : gros, scléreux et pathologique, 150 g.
Intestin rempli de sang (melœna et hématémèse). *Estomac* et *duodénum* non perforés. Pas de péritonite.

* * *

Les septicémies ne sont pas exceptionnelles au cours de l'évolution des abcès du foie et nous évaluons le taux des hémocultures positives à 5 o/o des cas environ au Tonkin. Nous avons même insisté sur l'intérêt de cette recherche.

Toutefois, si le staphylocoque, le streptocoque, voire même le bacille de Withmore ne sont pas exceptionnels, il est rarissime de rencontrer du colibacille. C'est la première fois que nous en voyons. D'une façon générale, ces lésions sont d'ailleurs rares, comme le note Roch dans un travail récent (1) que nous résumons très rapidement.

Il faut, pour qu'il y ait septicémie à colibacilles, que le malade soit affaibli par un état infectieux antérieur, par une atteinte sanguine (agranulocytose) ou toute autre cause diminuant la résistance du malade. Dans un certain nombre d'observations, le colibacille est seulement un *microbe de sortie* ou, si l'on veut, l'agent d'une *septicémie secondaire*, la première septicémie étant le fait d'un autre agent (streptocoque entérocope ou pneumocoque). C'est ainsi que, sur 7 cas réunis par l'auteur, 3 ont à leur origine un érysipède. Dans un autre groupe de fait, l'origine de la septicémie est une maladie organique antérieure du rein, des voies urinaires, de l'intestin.

Les symptômes n'ont rien de caractéristique. Par les troubles circulatoires qu'elle entraîne, la septicémie favorise la stase pulmonaire et la présence de signes pleuro-pulmonaires est presque constante.

L'examen du sang montre une anémie variant de 4.300.000 globules rouges à 2.700.000 globules rouges. Il y a une légère hyperleucocytose (8 à 10.000 globules blancs) avec polynucléose neutrophile (75 à 80 o/o). Les localisations secondaires sont rares. L'évolution est très variable. Lemierre, Augier et Mahoudeau ont eu 7 guérisons sur 7 colibacillémies. Sur le même nombre de malade, l'auteur compte 5 décès. Il n'y a pas de thérapeutique spécifique ayant fait ses preuves. Le pronostic est particulièrement sombre, quand le colibacille est l'agent d'une septicémie secondaire à une autre affection.

(1) R. Roch. Quelques observations de colibacillémies. *Annales de Médecine*, 1938.

Dans notre observation, il s'agissait bien d'un malade taré atteint d'ascaridiose et de cholécystite aiguë avec choléangéite, phlébite intrahépatique et abcès. L'anémie était particulièrement grave, du fait d'hémorragies gastro-intestinales, simulant l'ulcus et rarement signalées.

Encore un exemple d'abcès, de ces abcès tonkinois qui s'écartent considérablement de l'abcès tropical classique et dans l'étiologie desquels l'amibiase ne saurait seule intervenir.

Discussion.

R. Pons. — La communication de M. Huard souligne, une fois de plus, la tendance qui se manifeste, depuis quelques années, et sous l'influence des travaux de l'auteur associés à ceux de Meyer May, de substituer à l'étiologie amibienne dominante des abcès du foie en Indochine une étiologie bactérienne.

Il y a là, à notre avis, une erreur grave, qui risque de compromettre dans bien des cas le pronostic de certains malades, en substituant à la thérapeutique spécifique des abcès amibiens du foie une thérapeutique anti-infectieuse d'une efficacité douteuse contre des abcès hépatiques renfermant du staphylocoque, du *proteus*, du pyocyanique, du collibacille.

La tendance à méconnaître le rôle de l'amibe dans l'étiologie des abcès du foie est déjà si accusée que M. Huard dans son observation ne fait mention ni des accidents dysentériques possibles du malade, ni une recherche éventuelle concernant les kystes et les formes végétatives d'*Entamœba dysenteriæ*.

Loin de nous l'idée de nier la présence dans de nombreux abcès hépatiques, surtout à la période où se manifeste une indication opératoire formelle, de bactéries, hôtes normaux de l'intestin humain, car nous avons signalé ici-même (novembre 1929, p. 768, t. XXII) la présence de l'entérocoque, du colibacille, du paracolibacille, du pyocyanique dans le pus d'abcès du foie amibiens authentiques, puisque nous y avons noté la présence de nombreuses amibes, actives et hématophages. Nous n'avons pas cru cependant devoir porter le diagnostic d'abcès hépatiques à entérocoques, à colibacilles, à pyocyaniques, mais bien d'abcès amibiens infectés secondairement par l'entérocoque, le colibacille ou le pyocyanique.

L'amibe par la lésion de nécrose, qu'elle engendre, crée un foyer d'une réceptivité exquise pour tous les germes aérobies ou anaérobies susceptibles de parvenir jusqu'à cette lésion.

Au cours de trois séjours effectués en Indochine, nous avons eu bien souvent l'occasion d'observer l'évolution soudaine, brutale de

certains abcès amibiens jusque-là silencieux, bien tolérés, sans gros symptômes infectieux hépatiques, en abcès à grand fracas accompagné d'un état infectieux grave qui pouvait donner le change avec une infection généralisée grave. Dans ces cas, l'examen bactériologique du pus de ces abcès montrait soit la présence d'une association amibe-bactérie, soit surtout si l'intervention, par suite d'une mauvaise orientation du diagnostic, a été trop tardive, uniquement une flore bactérienne. L'amibe s'accomode mal, dans les abcès hépatiques, de la présence d'une bactérie. Même en l'absence d'amibes à l'examen du pus retiré au moment de l'opération, tout ce que nous connaissons de la biologie des germes précités s'oppose à une conception de leur rôle étiologique fréquent dans les abcès du foie. Il serait, croyons-nous, difficile de trouver dans la nomenclature médicale de nombreuses mentions d'abcès du parenchyme hépatique à colibacille, à *proteus*, à pyocyanique ou à staphylocoque. Par contre, il est beaucoup plus fréquent de rencontrer des abcès à bacille morveux, à bacille de Withmore, à bacille pesteux, etc...

En d'autres termes, les abcès du foie à staphylocoque, à colibacilles, à pyocyaniques, à *proteus*, à entérocoques n'existeraient pas s'il n'y avait pas d'abcès amibiens.

En ce qui concerne les voies d'accès possibles des bactéries aux abcès amibiens, elles sont multiples : *a*) l'amibe peut, au cours de sa migration de l'intestin vers le foie, entraîner dans son ectoplasme des germes intestinaux ; *b*) certaines bactéries intestinales peuvent, sans lésion apparente de l'intestin, au moment de la digestion par exemple, passer dans la « circulation porte », aller au foie et donner lieu à une bactériémie fugace (Chantemesse, Widal) ; *c*) l'infection peut se propager de l'intestin au parenchyme hépatique par les voies biliaires et l'on peut voir associées une amibiase hépatique et une fièvre bilioseptique avec une atteinte plus ou moins forte de cholécystite ou d'angiocholite ; *d*) enfin, dans certaines conditions, l'on peut envisager la voie lymphatique soit centrale, soit périphérique comme voies d'infections possibles des abcès amibiens du foie.

Quant aux septicémies vraies à colibacilles, il semble qu'elles soient loin d'être rares en Indochine. Pour notre part, nous en avons observé une dizaine de cas ; l'un d'entre eux a été publié en collaboration avec G. Montel (*Bull. Soc. M. C. Indochine*, 1925, p. 138) à cause de la multiplicité des hémocultures positives, de la forme clinique, enfin du résultat heureux obtenu avec un autovaccin, seul moyen de lutter spécifiquement quand il s'agit du colibacille qui n'est pas une entité antigénique fixe.

Et puisque nous nous adressons à des chirurgiens, nous croyons devoir attirer leur attention sur l'intérêt qu'il y a, au cours des

interventions sur les abcès du foie, à connaître si le pus est uniquement amibien ou s'il y a association d'une bactérie ; dans la première alternative, le traitement spécifique associé à l'évacuation, avec fermeture immédiate de l'abcès, peut suffir à la guérison, alors que la présence d'une flore bactérienne associée réduit considérablement les chances de guérison immédiate.

P. Mollaret. — Il convient d'approuver les sages réserves que M. Pons vient de présenter. En particulier, le colibacille, incriminé aujourd'hui, n'a sans doute joué qu'un rôle épisodique banal et les auteurs ont sans doute observé une bactériémie transitoire et non une septicémie avec détermination hépatique secondaire. Les données géographiques apparaissent ici trop suggestives. En contraste, d'ailleurs, la pathologie métropolitaine connaît bien le colibacille, au point que des stations thermales lui sont presque consacrées : pareilles conclusions n'y seraient point proposées.

INFECTION COMBINÉE PAR *SPIROCHETA GALLINARUM* ET *PLASMODIUM GALLINACEUM*

Par M. LION

Quelle est l'action du paludisme dans l'atténuation ou la disparition des accidents de la paralysie générale ? On a attribué l'influence observée à l'action pyrétique que cette infection exerce sur l'organisme et on a utilisé dans le même but certaines spirochétoses sanguicoles et même l'action physique des courants de haute fréquence.

Cependant nous avons eu connaissance d'un cas qui a été suivi dans le service de M. le docteur Auguste Marie et qui, ayant présenté dans le sang de nombreux parasites, sans fièvre, a cependant été très amélioré. Il faudrait, d'après cela, admettre que l'action du *Plasmodium* sur le tréponème de la syphilis dépende plutôt d'une sorte d'incompatibilité entre les deux microorganismes que d'une réaction thermique.

C'est dans le but de vérifier cette hypothèse que nos expériences ont été entreprises sur des poules atteintes de *Plasmodium gallinaceum*.

Il est évident que nous sommes très loin de ce qui se passe dans la malariathérapie. Dans ce dernier cas nous avons affaire à un tréponème qui mène une existence indéfinie, intra ou tout au moins juxta-cellulaire, et à un *Plasmodium* qui possède

peut-être, d'après son adaptation à l'homme, des fonctions spéciales. Dans l'autre, nous opérons d'abord en sens inverse puisque nous inoculons des spirochètes à un animal porteur de *Plasmodium* et que d'autre part nous utilisons un spirochète sanguicole à cycle défini, causant une maladie suivie d'immunité.

Le *Plasmodium gallinaceum* persiste presque indéfiniment chez la poule lorsqu'elle ne succombe pas à une première atteinte et le spirochète n'exerce qu'une action passagère qui peut entraîner la mort, mais disparaît en 5 ou 6 jours en laissant une immunité contre une nouvelle inoculation.

Les conditions sont donc tout à fait différentes, mais cependant l'expérience était intéressante à faire.

Ces expériences ont été commencées par MM. Chorine et Monier.

Une poule neuve et une poule parasitée par *Plasmodium gallinaceum* ont été placées dans un bac contenant des *Argas persicus*. Elles y sont laissées 12 à 15 heures, puis mises dans des cages séparées. Une goutte de sang est prélevée et examinée chaque jour à l'état frais et sur frottis colorés. Les résultats relevés ont été les suivants :

Tableau I

Poule injectée avec	Nombre d'hématies parasitées	Mode d'inoculation des spirochètes	Apparition des spirochètes	Fin de la crise
Spir. Pl. et Sp.	5 o/o	*Argas persicus* —	4e jour 4e —	Morte : 6e jour *Guérie* : 6e —
Spir. Pl. et Sp.	50 o/o	*Argas* —	3e jour 8e —	Morte : 5e jour *Guérie* : 5e —
Spir. Pl. et Sp.	Rares	Sang de poule infectée		*Guérie* : 7e jour *Guérie* : 7e —
Spir. Pl. et Sp.	Pl. visibles : o Inj. ancienne	*Argas* —	3e jour 3e —	Morte : 6e jour *Guérie* : 5e —
Spir. Pl. et Sp.	Rares parasites	Injection de culture de spirochètes	2e jour 2e —	*Guérie* : 5e jour *Guérie* : 5e — Meurt le 10e j.
Spir. Pl. et Sp.	Rares parasites	Injection de culture de spirochètes	2e jour 2e —	Morte : 5e jour *Guérie* : 5e —
Spir Pl. et Sp.	50 o/o hématies	*Argas* —	4e jour 4e —	Meurt Meurt
Spir. Pl. et Sp.	Rares parasites	*Argas* —	4e jour 4e —	Meurt Meurt

Ainsi dans cette série d'expériences, sur 8 poules injectées à la fois par *Spirocheta gallinarum* et *Plasmodium gallinaceum*,

2 sont mortes tandis que sur 8 poules ayant reçu seulement *Sp. gallinarum*, 6 ont succombé.

Nous avons continué les expériences sur ce même sujet en employant des cultures de spirochètes sur milieu Marchoux-Chorine. Selon sa richesse en spirochètes, la culture est plus ou moins diluée d'eau physiologique et injectée dans les muscles pectoraux. Les poules parasitées par *Pl. gallinaceum* ont été prises en fin de crise quand les parasites n'étaient plus très nombreux, ou bien traitées par des injections de chlorhydrate de quinine par doses de 1-2 cg. pour éviter la mort.

Les résultats ont été les suivants :

Tableau II

Poule inoculée avec	Nombre d'hématies parasitées	Mode d'inoculation des spirochètes	Apparition des spirochètes	Fin de crise
Spir. Pl. et Sp.	2-3 par champ	1 cm³ culture contenant 5 spir. par champ	3e jour 3e —	Morte le 5e jour *Guérie* le 5e —
Spir. Pl. et Sp.	100/0 hématies parasitées	0 cm³ 5 sang contenant 50 spir. par champ	2e jour 2e —	Morte le 6e jour *Guérie* le 5e —
Spir. Pl. et Sp.	400/0 hématies parasitées	1 cm³ culture contenant 6 spir. par champ	4e jour 3e —	Morte le 6e jour *Guerie* le 5e —
Spir. Pl. et Sp.	1-2 0/0	0 cm³ 5 culture contenant 5 spir. par champ	ne prend pas 4e jour	Morte le 5e jour
Spir. Pl. et Sp.	Rares paras.	0 cm³ 25 culture à 8-10 spir. par champ	3e jour 3e —	*Guérie* le 5e jour *Guérie* le 5e —
Spir. Pl. et Sp.	Rares paras.	0 cm³ 25 culture à 8-10 spir. par champ	3e jour 3e —	*Guérie* le 6e jour *Guérie* le 6e — Meurt le 7e —
Spir. Pl. et Sp.	1-2 par champ	1 cm³ sang contenant 10 spir. par champ	2e jour 2e —	*Guérie* le 6e jour *Guérie* le 6e —
Spir. Pl. et Sp.	1-2 par lame	1 cm³ sang contenant 10 spir. par champ	2e jour 2e —	*Guérie* le 6e jour Morte le 6e —
Spir. Pl. et Sp.	10 0/0	1 cm³ culture contenant 5 spir. par champ	3e jour 3e —	Morte le 5e jour *Guérie* le 5e —

Sur 9 poules ayant subi l'infection mixte, 3 sont mortes, alors que sur 9 poules atteintes de spirochétose, 4 ont succombé.

Les résultats encourageants obtenus par MM. Chorine et Monier ne se sont pas maintenus dans nos expériences ; il paraît donc logique de conclure qu'ils ont bénéficié d'une série favorable tandis que, pour nous, c'est le contraire.

Conclusion

Il nous faut donc conclure qu'on ne peut retirer des expériences exposées ici aucun élément d'information relatif à l'action du *Pl. vivax* sur le tréponème de la syphilis. Les termes de comparaison qu'on peut retrouver sur la poule diffèrent trop de ceux qui se rencontrent chez l'homme.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE PATHOGÉNIQUE DE LA RHINO-PHARYNGITE ULCÉREUSE ET MUTILANTE (GANGOSA)

Par A. SICÉ, H. POUDEVIGNE et H. BERTHON

Les observations résumées que nous rapportons concernent trois malades atteints d'une rhino-pharyngite ulcéreuse et mutilante, à des stades évolutifs différents. Deux d'entre eux présentaient en outre et conjointement des pianomes disséminés.

Observation 1. — Femme de 20 ans, hospitalisée à Sikasso, zone Sud du Soudan Français en bordure de la Côte d'Ivoire. Les lésions actuelles auraient débuté il y a plusieurs mois par un nodule arrondi, indolore, dépressible, prurigineux, des dimensions d'un petit pois, siégeant à l'extrémité postérieure de l'orifice inférieur de la narine droite tout contre l'insertion de la sous-cloison. Sa description par la malade ne permet pas de préciser sa nature : il n'est guère possible d'en faire un papillome, il a en tout cas présenté un stade pustuleux, la pression en faisait sourdre un liquide séro-purulent et déterminait son affaissement. Sous cet aspect, cette néo-formation aurait persisté plusieurs mois et serait devenue secondairement le point de départ d'un processus ulcératif, à marche persistante, transformation qui a déterminé l'envahissement des cavités de la face et la mutilation actuelle.

L'examen montre, en effet, une ulcération large, occupant le centre du massif facial, irrégulière, sensible et même douloureuse, de consistance molle, formée en surface de multiples saillies obtuses, confluentes, de teinte rougeâtre, saignant avec une grande facilité et recouvertes d'une sécrétion consistante, ichoreuse, mais sans analogie avec la fausse membrane épaisse, jaune-verdâtre du phagédénisme. Son fond est représenté

par une fente antéro-postérieure, étroite, mais que l'on peut entr'ouvrir et qui donne accès à une cavité vaste délimitée par le squelette des fosses nasales. De même qu'ont disparu les téguments, le tissu cellulaire sous-cutané et la couche musculaire de la région nasale, de même ont été détruits la muqueuse, les cartilages principaux et accessoires, le tissu fibreux ; les os ont, en partie, perdu leur intégrité. Cette ulcération est limitée par un bourrelet épaissi, infiltré sans dureté, ni fissuré, ni décollé, qui longe le pourtour supérieur libre de la lèvre supérieure dont le tubercule médian est respecté tandis qu'ont disparu le sillon sous-nasal et les labio-géniens ; elle déborde latéralement le sillon naso-génien et chevauche la racine du nez dont est respectée la limitesupérieure. Un empâtement marqué de la partie interne et supérieure des régions géniennes a gagné les régions palpébrales maintenant les yeux fermés, les paupières supérieures étant plus œdématiées, luisantes et plus claires que les inférieures. En outre, par ses expansions serpigineuses, le processus destructif a déterminé une plaie fistuleuse à la partie externe du bord adhérent de la paupière supérieure droite qu'explore le stylet jusqu'à l'arcade orbitaire du frontal qui ne paraît pas lésée (les globes oculaires sont indemnes) ; deux vésico-pustules, des dimensions d'une lentille, à la portion supérieure et interne de la région génienne gauche ; enfin, dans la partie médiane du voile du palais, le stylet explore un trajet borgne, vestige vraisemblable d'une fistule ancienne. C'est la seule modification pathologique apparente du voile, la luette est intacte.

La gencive supérieure est tuméfiée, sensible, saignant aisément ; ses incisives et canines sont très mobiles.

Le timbre de la voix est rauque et nasonné.

Dans les régions céphaliques et cervicales existent des ganglions petits, durs, indolores, roulant sous le doigt ; pas de périadénite.

Les antécédents de la malade indiquent une atteinte du pian dans son enfance, sans autre infection. Elle n'a pas eu la syphilis. Le Bordet-Wassermann est positif dans le sang, négatif dans le liquide céphalo-rachidien.

L'état général est déficient. La malade est amaigrie.

Traitement. — Du 6 mai au 5 juin, elle reçoit par voie intramusculaire une dose totale de 2 g. d'une suspension huileuse de salicylate de bismuth à 10 o/o ; puis du 7 juin au 28 juillet, 5 g. 85 de novarsénobenzol par voie intraveineuse ; enfin du 14 août au 15 septembre, nouvelle prescription de 2 g. de salicylate de bismuth, en suspension huileuse, par voie intramusculaire.

A ce moment, la transformation et l'amélioration de la malade sont telles que, spontanément, elle quitte le dispensaire.

Elle y revient au mois de novembre 1937 : l'amélioration s'est accentuée. On lui propose un traitement avec du novarsénobenzol, en injections intraveineuses, qu'elle accepte. Mais après une dose totale de 2 g. 25, elle disparaît à nouveau. L'ulcération était alors à peu près cicatrisée. Nous n'avons plus revu la malade.

Observation 2. — Enfant de 18 mois présenté par sa mère au dispensaire de Sikasso. Une éruption de boutons pianiques peu nombreux se remarque sur ses membres et le tronc, tandis que dans sa région nasale évolue une ulcération à ses débuts. Elle a eu pour point de départ un bouton apparu, il y a trois mois, au bord postérieur de l'orifice inférieur de la narine droite sur lequel s'est greffé un processus local destructif qui évolue, depuis, avec rapidité : la sous-cloison a disparu, détruites les

parties molles de la lèvre supérieure dont le bord libre conserve son tubercule médian, l'aile droite du nez n'existe plus, à gauche elle est très entamée, il en est de même des régions géniennes, les paupières supérieures et inférieures sont bouffies, œdématiées, pâlies et closes. La saillie arrondie du lobule du nez persiste encore. Un orifice fistuleux étroit siège au-dessous de la commissure interne des paupières droites (fig. 1). La voûte palatine et le voile du palais n'ont pas de lésions macroscopiques : leur palpation est douloureuse. Présence de ganglions sous-maxillaires mobiles, sensibles. Une sécrétion sanieuse, dégageant une odeur nauséabonde, recouvre cette surface ulcérée.

Fig. 1. — Rhino-pharyngite ulcéreuse et mutilante chez un enfant.

L'état général de cet enfant est franchement mauvais, la station debout ne lui est plus possible. la mère est obligée de le porter, il refuse toute alimentation. Il devait succomber quelques jours plus tard, sans avoir pu bénéficier du traitement général et spécifique qui lui avait été prescrit.

La mère ne présentait ni pian ni syphilis.

Observation 3. — Il s'agit d'un homme, examiné à Kissidougou (Guinée Française), atteint du pian et de lésions ulcéreuses de la région nasale et du rhinopharynx, ayant les mêmes caractères que celles de la malade de l'observation 1. Mais le processus destructif est ici plus ancien. La désintégration des tissus est analogue, la surface ulcérée, bourgeonnante, montre les mêmes saillies obtuses, tapissées d'une sécrétion identique par sa nature, son aspect, son odeur. La progression serpigineuse est plus étendue : on voit un cratère central dont l'orifice béant, oblique de haut en bas et de dedans en dehors, découvre le maxillaire supérieur droit et le plancher des fosses nasales réduit à son squelette. De ce gouffre central rayonnent plusieurs trajets fistuleux qui viennent aboutir : 1) dans les régions géniennes droite et gauche à des orifices encombrés

de bourgeons charnus ; 2) à la limite supérieure de la région nasale et à droite de la ligne médiane, l'ouverture du trajet est béante, cratériforme, ses bords sont amincis, déchiquetés, décollés ; 3) à la partie interne du bord adhérent de la paupière supérieure droite, une ouverture analogue offre les mêmes caractères, tandis que plus en dehors se voit une ulcération circulaire, à bords surélevés. Il n'existe pas d'œdème des paupières, les yeux sont bien ouverts, les conjonctives et les globes oculaires intacts (fig. 2).

Fig. 2. — Rhino-pharyngite ulcéreuse et mutilante chez un adulte.

L'origine du processus destructif, chez ces trois malades, est une néoformation cutanée (nodule, bouton, pustule), siégeant à l'extrémité postérieure de l'orifice inférieur de l'une des fosses nasales, soit en sa partie libre, soit au point d'insertion de la sous-cloison. L'ulcération de cette néoproduction a favorisé secondairement l'installation d'un phagédénisme dont la marche persistante a provoqué la destruction, encore limitée chez l'enfant, de la partie supérieure de la région labiale, puis de la région nasale de la femme (obs. 1) et de l'homme (obs. 3), de tout le revêtement muqueux des fosses nasales, de leurs cartilages et tissu fibreux, s'attaquant à leur plancher, gagnant la région pharyngienne puis, en rampant, bouleversant les plans des régions géniennes et palpébrales.

L'homme et l'enfant étaient des pianiques en évolution, la femme, dans son anamnèse, déclarait avoir fait la même infection.

Botreau-Roussel (Clinique chirurgicale des Pays chauds) montre la coexistence, chez un adolescent de la Côte d'Ivoire, de pianomes de la face, des épaules, des membres, avec une rhino-pharyngite ulcéreuse qui avait détruit toute la région nasale. Coïncidence fortuite, comme dans nos 3 observations, le processus destructif est encore plus accusé à droite qu'à gauche.

Jolly et Di Ruggiero (*Bull. Soc. Path. Exotique*, 1937, p. 608) ont observé, chez un homme de la Guadeloupe, une ulcération siégeant à l'extrémité postérieure de l'orifice inférieur des fosses nasales et qui, après avoir détruit la sous-cloison, progressait en direction des fosses nasales. Dans le passé de ce malade, aucune trace du pian.

De nombreux auteurs, tant étrangers que Français, font de la rhino-pharyngite ulcéreuse une complication ou une séquelle du pian. D'autres, écartant cette étiologie, lui attribuent un agent pathogène spécifique.

Dans nos observations 2 et 3, l'évolution du pian peut être mise à l'origine du processus de destruction persistante de leur rhino-pharyngite ulcéreuse ; cette pathogénie est discutable chez la malade de l'observation 1.

Le bouton pianique est susceptible de s'ulcérer. Parfois cette ulcération se complique de phagédénisme. Un papillome pianique, occupant l'extrémité postérieure de l'orifice inférieur des fosses nasales, peut, à l'instar de tout pianome, subir un processus ulcéreux qui, non soigné, se compliquera de phagédénisme. Une semblable destruction confère à cette localisation du pianome un caractère particulier de gravité.

En dehors de toute infection pianique concomitante, il est non moins possible qu'une lésion de l'extrémité postérieure de l'orifice inférieur des fosses nasales, déterminée par tout autre agent pathogène que *T. pertenue*, devienne le siège, chez des sujets dont l'état général déficient s'y prête, d'un processus destructif de la région rhino-pharyngée.

CULTURE *IN VITRO* D'UNE SOUCHE DE *TRYPANOSOMA GAMBIENSE* D'ISOLEMENT ANCIEN

Par Mme M. LWOFF et J. CECCALDI

La première culture *in vitro* d'un trypanosome pathogène fut réalisée en 1903 par Novy et Mac Neal qui isolèrent et entretinrent sur gélose-sang le *Trypanosoma brucei*. Les multiples tentatives qui suivirent ne donnèrent pas de résultats bien décisifs, exception faite pour celles de Ponselle (1924). Cet auteur put étendre à de nombreux trypanosomes pathogènes les résultats qu'il avait déjà obtenus avec le *Trypanosoma rotatorium* et cultiva, outre *Trypanosoma inopinatum*, pathogène pour la grenouille, *Trypanosoma brucei*, *pecaudi*, *rhodesiense* et *dimorphon*, pathogènes pour les vertébrés à sang chaud. Ces essais ont été repris par Razgha (1929) qui a cultivé, dans un milieu très simple, le *Trypanosoma gambiense*, puis par Reichenow (1932-34) d'une manière étendue et approfondie. Enfin, plus récemment, Brutsaert et Henrard (1936-38) ont appliqué, au diagnostic par hémoculture des trypanosomiases humaines et animales, les résultats de Razgha : les cultures peuvent déceler l'infection là où tous les autres procédés de diagnostic ont échoué. Grâce à ces travaux, l'hémoculture est devenue l'un des procédés les plus sensibles du diagnostic des trypanosomiases.

Reichenow a émis l'hypothèse que les insuccès répétés, enregistrés dans les essais de culture des trypanosomes pathogènes, pouvaient être dus au fait qu'on a le plus souvent expérimenté avec des trypanosomes conservés depuis des années par passages sur animaux de laboratoire ; ces souches auraient perdu concurremment leur faculté de développement dans la glossine et de multiplication *in vitro* (1). C'est ainsi que Razgha — dans le laboratoire de Reichenow — obtint une multiplication très intense *in vitro* de 2 souches récemment isolées de *Trypanosoma gambiense*, tandis que, dans les mêmes conditions, une souche de *T. gambiense*, isolée depuis 8 années, et une souche de *T. rhodesiense*, isolée depuis 5 années, ne donnèrent que des résultats médiocres : multiplication très faible dans un seul tube. Une autre souche de *T. rhodesiense*, vieille de 17 ans, ne montra aucun développement. Reichenow lui-même isola facilement en culture une souche de *T. gam-*

(1) Voir Doflein-Reichenow, 1927-29, p. 408.

biense à partir du premier passage sur animaux : singes et rats. Les repiquages furent faciles, mais la culture fut perdue au 8e passage après infection par un coccus ; elle avait duré 111 jours. Le trypanosome ayant été entre temps gardé sur animaux, un nouvel essai d'isolement fut entrepris ; il s'était alors écoulé 1 an 3/4 depuis le début de la première tentative. Sans difficultés, cette nouvelle culture fut conduite jusqu'au 19e repiquage. Au 20e, 3 tubes seulement sur 12 montrèrent des flagellés et aucun au 21e. La culture fut perdue pour une cause inconnue. La souche avait été à ce moment conservée pendant 2 ans et demi sur animaux. Au cours d'un nouvel essai, un premier repiquage fut positif, mais les suivants ne furent pas possibles. Ainsi, une souche facilement cultivable peu après son isolement du malade, l'a été encore 1 an 3/4 après, mais s'est montrée rebelle à tout développement *in vitro* au bout de 2 ans et demi.

L'étude d'une autre souche a donné à Reichenow les résultats suivants. La culture fut faite à partir du sang d'un macaque inoculé avec le sang d'un malade trypanosomé. L'isolement fut facile, la culture abondante jusqu'au 7e repiquage. C'est alors que le développement se montra moins bon (8 tubes positifs sur 12) ; au 8e repiquage, 2 tubes seulement renfermaient des trypanosomes. La culture fut perdue au bout de 112 jours. La souche, âgée de 6 mois, fut isolée à nouveau *in vitro*. La multiplication fut peu intense jusqu'au 5e repiquage, mais à partir de ce moment, les trypanosomes se multiplièrent plus abondamment, fait attribué par Reichenow à ce que les cultures furent placées à une température plus favorable (25-26° au lieu de 23°). Cette culture est repiquable en série. Les passages pendant 6 mois sur animaux n'ont donc pas fait perdre à *T. gambiense* son aptitude à se multiplier *in vitro*.

*
* *

Nous avons essayé de cultiver un *Trypanosoma gambiense* d'isolement ancien. Nous avons utilisé une souche provenant de Yaoundé (Cameroun) d'où elle fut envoyée au Professeur F. Mesnil par le Docteur Jonchères. Elle parvint au laboratoire le 22 décembre 1934. Elle s'est montrée très peu pathogène pour la souris et a été entretenue régulièrement sur cobaye. En janvier 1936, un peu plus d'un an après l'isolement du trypanosome sur animal, E. Roubaud et J. Colas-Belcour ont obtenu sa multiplication dans l'intestin de la glossine : 1 glossine infectée sur 51. L'infection était abondante, mais limitée à l'intestin moyen abdominal.

L'isolement en culture a été fait le 28 janvier 1939. Depuis le 22 décembre 1934, il s'était donc écoulé un peu plus de 4 ans.

Les cultures ont été faites en milieu de Razgha (*). Pour le prélèvement du sang infecté, nous avons utilisé la technique de Brutsaert et Henrard que nous avons suivie point par point ; il n'est donc pas nécessaire d'y revenir. Rappelons seulement que les auteurs belges utilisent, comme anticoagulant, lors du prélèvement du sang à cultiver, non pas le citrate de sodium, mais le polyanéthol sulfonate de sodium (« liquoïde » Roche). Cette substance donne, d'après les observations de Brutsaert et Henrard, des résultats plus réguliers que le citrate de sodium.

Le cobaye choisi était, au moment de l'isolement, inoculé depuis plus d'un mois. L'infection avait été intense au début mais, à l'époque où fut faite l'hémoculture, les trypanosomes n'étaient plus décelables à l'examen direct du sang périphérique. Une goutte épaisse colorée montra de rares trypanosomes. Le sang fut prélevé par ponction cardiaque (le 28-I-39). 6 tubes furent ensemencés et placés à la température de 28°. Pour la préparation du milieu, le sang de 2 personnes avait été utilisé ; 3 tubes avaient été faits avec chacun d'eux. Le 6-II-39, soit le 10e jour après l'ensemencement, tous les tubes renfermaient des trypanosomes très actifs, isolés ou en rosaces. Ceux-ci répondaient morphologiquement aux figures données par Reichenow (1934) pour les trypanosomes de culture : formes longues et assez minces, au blépharoplaste très éloigné de l'extrémité postérieure du corps, formes que l'on rencontre aussi dans les infections intestinales des glossines.

Le 2e repiquage fut effectué le 7-II, avec 6 tubes également. Seuls, 2 tubes montrèrent, à partir du 20-II, une culture notable. Dans cette série, le sang qui avait servi à la confection du milieu provenait de trois personnes différentes : L, M et S. Les 2 tubes où se produisit la culture contenaient le sang du sujet M.

C'est à partir d'un de ces tubes que fut fait le 3e repiquage, le 27-II. Cette fois, le milieu avait été préparé avec le sang d'une seule personne, le sujet A. Le 14-III, les 6 tubes montrèrent de très nombreux trypanosomes. Jamais, depuis le début de l'isolement, nous n'avions observé de cultures si abondantes. Pour le 4e repiquage, effectué le 16-III, le 5e effectué le 3-IV, et le 6e effectué le 16-V, nous avons toujours utilisé le sang du sujet A. En outre, les trois dernières séries de tubes furent préparées avec le sang d'un même prélèvement, datant du 14-III. Partout la culture fut très abondante.

La série fut alors volontairement abandonnée. Nous avons donc

(*) On sait que le milieu de Razgha se compose d'un mélange à parties égales de solution de Ringer à 6 o/oo de chlorure de sodium (formule pour invertébrés) et de sang humain citraté.

cultivé au cours de 6 repiquages successifs, pendant 98 jours, une souche de *Trypanosoma gambiense* qui avait été conservée auparavant sur cobaye pendant plus de 4 ans. Il sera intéressant de voir si l'isolement *in vitro* de la même souche sera encore possible dans l'avenir.

*
* *

On sait que, d'après la conception de Reichenow, la faculté de développement *in vitro* d'un trypanosome pathogène évolue parallèlement à son pouvoir infectieux pour l'insecte transmetteur, la glossine par exemple. En 1936, notre souche infectait *Glossina palpalis* (expériences de Roubaud et Colas-Belcour). Il est possible qu'actuellement, elle n'ait pas perdu ce pouvoir infectieux ; nous ne l'avons pas recherché. Mais d'après le détail de nos expériences on voit que la souche a failli être perdue au 2e repiquage. Si nous n'avions utilisé, pour ce repiquage, que les milieux préparés avec le sang des sujets L et S, nous nous serions très probablement cru autorisés à conclure à l'absence de possibilité de développement *in vitro* de cette souche de trypanosome, phénomène que nous aurions peut-être attribué, non sans apparence de raisons, à l'ancienneté de son isolement à partir du malade. Pourtant, à partir du 3e repiquage et jusqu'à la fin de l'expérience, nous n'avons plus eu d'insuccès : nous avons alors toujours utilisé le sang du sujet A. Nos constatations sont à rapprocher d'observations de Brutsaert et Henrard qui ont remarqué que tous les sangs ne sont pas favorables. Certains, comme nous l'avons vu, rendent même impossible toute multiplication des trypanosomes.

Il est évident qu'il reste à déterminer avec précision à quels multiples facteurs peuvent être liées ces irrégularités. On sait l'importance de nombreuses substances, dont quelques-unes ont été identifiées à certaines vitamines, pour les Trypanosomides pathogènes, *Leishmania*, *Schizotrypanum cruzi* (M. Lwoff, 1938-39) ; mais on peut se demander si, dans le cas particulier, les différences entre la « valeur » des sangs de différentes personnes doit être attribuée à des facteurs de ce genre. L'absence totale de multiplication du trypanosome pourrait correspondre à une carence très prononcée en certaines substances, hypothèse difficile à admettre pour des sujets normaux. Il est plus vraisemblable que des facteurs de toxicité doivent intervenir.

Quoi qu'il en soit, il semble important, quand on veut étudier la perte progressive du pouvoir de multiplication *in vitro* d'un trypanosome pathogène, de sélectionner des « donneurs » dont le sang a été reconnu favorable. Il n'est pas impossible que la nécessité

d'une telle sélection se fasse moins sentir à l'égard de souches isolées en culture à partir des malades qu'à l'égard de celles conservées depuis un certain temps déjà sur animaux de laboratoire. Mais les conclusions sur la perte apparente du pouvoir de multiplication *in vitro* devront être formulées en tenant compte de nos constatations.

Résumé

Nous avons pu cultiver, dans le milieu de Razgha, au cours de 6 repiquages en série, s'étendant sur 98 jours, une souche de *Trypanosoma gambiense*, entretenue auparavant depuis plus de 4 ans sur cobaye.

L'expérience montre que le sang de certains individus permet la multiplication *in vitro* des trypanosomes alors que le sang d'autres sujets est incapable d'assurer cette multiplication.

Pour que les conclusions relatives à la perte progressive du pouvoir de multiplication *in vitro* d'un trypanosome gardent toute leur signification, il paraît nécessaire de sélectionner des « donneurs » dont le sang est reconnu favorable.

Institut Pasteur, Service de Parasitologie.

Travaux cités

Brutsaert (P.) et Henrard (C.). — Het Kweeken van pathogene Trypanosomen (en flamand, résumé français). *Annales Soc. belge Méd. Trop* , t. XVI, 1936, p. 457.

Brutsaert (P.) et Henrard (C.). — L'hémoculture comme moyen auxiliaire de diagnostic de la maladie du sommeil. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXVII, 1939, p. 1469.

Doflein-Reichenow. — Lehrbuch der Protozoenkunde, 5e édition, 1927-29.

Lwoff (Marg.). — L'hématine et l'acide ascorbique, facteurs de croissance pour *Schizotrypanum cruzi*. *C. R. Acad. Sc.*, t. CCVI, 1938, p. 540.

Lwoff (Marg.). — Le pouvoir de synthèse des Leishmanies. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXX, 1939, p. 406.

Novy (F. G.) et Mac Neal (W. J.). — The cultivation of *Trypanosoma brucei*. *J. Amer. Med. Assoc.*, t. XLV, 1903.

Novy (F. G.) et Mac Neal (W. J.). — On the cultivation of *Trypanosoma brucei*. *J. inf. Dis.*, t. I, 1904, p. 1-30.

Ponselle (A.). — Culture des Trypanosomes pathogènes. *C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXVIII, 1924, p. 1219.

Razgha (A. von). — Ueber die Züchtung der menschenpathogenen Trypanosomen. *Zeitschr. f. Parasitenk.*, t. II, 1929, p. 55.

Reichenow (E.). — Das Verhalten von *Trypanosoma gambiense* in der Kultur. *Zeitschr. f. Parasitenk.*, t. IV, 1932, p. 784.

Reichenow (E.). — Die Züchtung der pathogenen Trypanosomen. *Arch. f. Schiffs. u. Tropen. Hyg.*, t. XXXVIII, 1934, p. 292.

Reichenow (E.). — Dauerkultur pathogener Trypanosomen. *C. R. XII^e Congrès International de Zoologie*, Lisbonne, 1935 (1937, p. 1955).

Reichenow (E.). — Die bisherige Erfahrungen mit der Dauerzüchtung afrikanischer pathogener Trypanosomen, *Festschr. Bernhard Nocht*, 1937.

Reichenow (E.). — Ueber die Entwicklungsfähigkeit der Kulturformen von *Trypanosoma gambiense* und *Trypanosoma congolense* in Glossinen. *Arch. f. Schiffs. u. Tropen. Hyg.*, t. XLIII, 1939, p. 197.

Roubaud (E.) et Colas-Belcour (J.). — Essai de transmission de *Trypanosoma gambiense* par *Glossina palpalis* à l'Institut Pasteur de Paris. *Bull. Soc. Path. exot.*, t. XXIX, 1936, p. 500.

OBSERVATIONS SUR LA FÉCONDITÉ ET LA LONGÉVITÉ DE *A. HYRCANUS* VAR. *SINENSIS* WIED

Par C. TOUMANOFF

Dans une de ses publications, E. Roubaud indique qu'on ne possède guère de renseignements précis sur le nombre des pontes et le chiffre total des œufs que les Culicides et en particulier les Anophélinés sont susceptibles de produire au cours de leur existence.

On considérait habituellement que deux ou trois pontes de 150 à 200 œufs représentaient la fécondité totale d'une femelle d'anophèle.

En étudiant de plus près une des femelles de son élevage de *A. maculipennis*, Roubaud a démontré qu'une femelle de *A. maculipennis* var. *fallax* Roubaud peut accomplir 6 pontes, et le nombre total d'œufs pondus par cette femelle fut, dans le cas observé, de 1.145 œufs (1).

En ce qui concerne les anophèles extrême-orientaux on ne possède aucun renseignement sur la fécondité des femelles. Dans la plupart des publications ayant trait aux Anophélinés d'Extrême-Orient les auteurs, en évaluant l'importance des pontes, s'adressent aux femelles capturées dans la nature, et jugent leur fécondité souvent d'après une seule et unique ponte déposée en captivité.

Entre autres observations, au cours d'un élevage de *A. hyrcanus*, nous avons pu étudier la fécondité réelle de cette espèce en deux saisons de l'année tonkinoise.

(1) *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. XXVII, 14 novembre 1934, p. 853-54.

Nous présenterons tout d'abord quelques-unes de nos observations faites en été pour relater ensuite celles faites en hiver.

a) Quelques femelles et mâles sont mis en élevage dans une cage le 13 mai 1938. Toutes ces femelles sont nourries sur le bras du 13 au 25 mai et se gorgent presque tous les jours et assez bien. Une femelle présentant apparemment l'ovaire au stade 5 est séparée des autres le 25-5-38 et mise dans la cagette de Roubaud, au-dessus d'un bocal rempli d'eau avec quelques algues flottant à la surface afin de permettre à la femelle de mieux effectuer sa ponte.

Elle se gorge très bien le 26, 27 et 29 et reste en repos jusqu'au 31 mai. Le 1er juin elle effectue sa première ponte de 194 œufs.

Elle se gorge aussitôt après avoir accompli la ponte. Le repas de sang est très abondant et la femelle refuse de piquer les journées suivantes. Elle fait une nouvelle ponte, en déposant cette fois-ci 51 œufs. Nourrie le même jour, elle refuse de piquer, mais se gorge très fortement le 6 juin pour déposer une troisième ponte, composée de 124 œufs, le 9 juin. Elle prend très volontiers un nouveau repas, et pond le 10 juin de nouveau, cette fois-ci 79 œufs, puis se nourrit de nouveau.

La cinquième ponte survient le 13 juin et est composée de 148 œufs. La femelle se gorge de nouveau le même jour et effectue une nouvelle e sixième ponte le 15 juin, cette ponte est composée de 164 œufs. La femelle reprend un nouveau repas de sang, et effectue le 17 juin une nouvelle ponte de 121 œufs.

Après cette ponte la femelle refuse de se gorger le 16 et le 17, et se gorge assez bien le 20-6-38.

Le 20 juin la femelle est mourante, étendue sur la surface de l'eau.

Elle est disséquée : son ovaire n'est pas mûr, il est au stade 3.

La spermathèque contient encore de nombreux spermatozoïdes.

Les œufs déposés par cette femelle ont donné des éclosions dans les délais normaux.

En l'espace de 17 jours du commencement de l'observation jusqu'à la fin *la femelle a déposé un total de 881 œufs.* 7 pontes

b) Quelques mâles et femelles sont mis en expérience fin avril 1938.

Une femelle à l'état de maturité et n'ayant pas encore pondu est isolée le 25 mai 1938. Elle a effectué, avant de porter ses œufs à la maturité, 17 repas de sang.

Le 28 mai la femelle effectue sa première ponte et se gorge le même jour. La première ponte est composée de 69 œufs.

La deuxième ponte survient le 31 mai et est constituée par 135 œufs, la femelle prend de nouveau un repas de sang le même jour et refuse de se gorger le 1er et le 2 juin. Elle effectue sa troisième ponte composée de 115 œufs le 3 juin et se gorge de nouveau et très avidement le même jour.

Elle refuse de se gorger le 4-6-38 et le 5-6-38, se gorge assez bien le 6-6-38 et dépose le 10-6-38 sa quatrième ponte, composée de 96 œufs. Elle n'accepte pas de repas et expulse le jour suivant 108 œufs (cinquième ponte) qui sont vraisemblablement des œufs tardifs de la quatrième ponte. Elle prend un repas de sang.

Le 14 juin une nouvelle ponte survient, elle est composée de 79 œufs. La femelle fait encore un repas incomplet le 15 juin, refuse de se gorger le 16 juin. Elle est très affaiblie à cette date et meurt le 17-6-38 avec un ovaire au stade 3.

Notre femelle a donc accompli en l'espace d'un peu plus de deux semaines *6 pontes composées au total de 602 œufs.*

En ce qui concerne le comportement sexuel des femelles et leur fécondité en hiver nous relaterons ici l'histoire des deux femelles, dont une provenant d'un lot d'élevage commencé en novembre et l'autre de celui effectué en mars.

La première femelle provenait du lot de ♂ et ♀ mis en expérience le 13 novembre. Cette femelle a séjourné dans la grande cage avec les mâles pendant 3 semaines et s'est gorgée tous les deux jours.

Elle a été ensuite isolée et nourrie individuellement. Malgré des repas réitérés qu'elle effectue depuis le 13 novembre elle n'a accompli sa ponte que le 4 mars, soit 110 jours après sa mise en expérience. Cette ponte a été composée de 91 œufs. La femelle affaiblie après la ponte est restée vivante les 12 jours qui l'ont suivi ; elle est morte après avoir pris encore quelques repas de sang sans avoir porté ses œufs à la maturité. Ses ovaires étaient au stade 2-3.

Cette femelle frappée d'une véritable asthénie hivernale que nous avons mentionné dans une note antérieure, n'a donc effectué, comme plusieurs autres du même lot, qu'une seule et unique ponte.

Parmi les femelles de la deuxième génération de ce même élevage éduquées en février, la plupart n'ont effectué qu'une ponte ou deux mais une femelle a déposé 4 pontes.

Cette femelle éclot le 13 février et prend ses repas de sang tous les deux jours.

Elle fut isolée le 25 mars.

Elle effectue sa première ponte le 6 mars. Cette ponte est composée de 91 œufs. Nourrie tous les deux jours elle continue à prendre des repas de sang, et effectue une deuxième ponte de 86 œufs le 15 avril 1938.

La troisième ponte composée de 72 œufs est déposée le 9 mai 1938 et la quatrième et dernière le 16 mai 1938. La femelle meurt le 18 mai 1938 après avoir déposé au total 305 œufs.

Les diagrammes ci-dessous (fig. 1), expriment les dates successives des prises de sang (points noirs) et les dates de ponte qui sont indiquées par les croix.

On remarquera dans ces diagrammes que la femelle éduquée en été au mois de mai a accompli plusieurs repas de sang avant d'arriver à la première ponte.

Le fait intéressant est que les femelles élevées en été ont besoin de plusieurs repas pour arriver à leur première ponte, tandis qu'après la première ponte généralement un seul et unique repas suffit pour porter les œufs à la maturation en été.

On constate aussi qu'en été les pontes se succèdent assez rapidement à l'intervalle de 2 à 4 jours et que les femelles après avoir accompli 6, 7 pontes meurent assez rapidement affaiblies et épuisées.

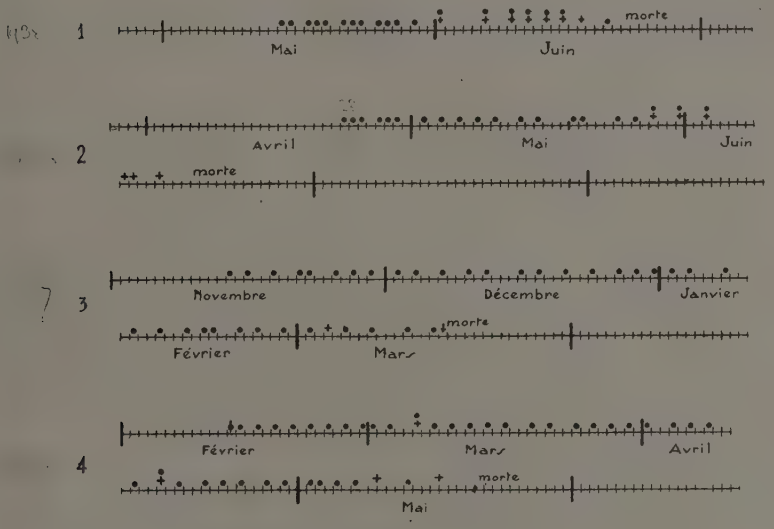

Fig. 1.

Comme on peut en juger par l'examen du diagramme n° 3, la femelle asthénique de l'élevage commencé en novembre n'a pondu qu'une seule fois 110 jours après sa mise en expérience.

Enfin comme le montre le diagramme n° 4, chez la femelle mise en expérience à la fin d'hiver, en février, et observée jusqu'au début de l'été, la première ponte est survenue le 24e jour. L'intervalle entre la première et la deuxième ponte fut de 39 jours ; entre la deuxième et la troisième de 25 et entre la troisième et la quatrième de 7 jours, la mort de la femelle est survenue peu après la quatrième ponte.

Dans l'intervalle entre deux pontes, la femelle continuait à se nourrir et accomplissait de nombreux repas de sang.

Les quelques observations que nous relatons dans cette note font ressortir la complexité que présente la question du rapport des anophelinés avec les hôtes.

Résumé et conclusions.

1° Les femelles de *A. hyrcanus* var. *sinensis* au Tonkin peuvent accomplir en été 6 ou 7 pontes. Le nombre d'œufs pondus par ces femelles à cette époque de l'année a été respectivement de 881 et 607 pour deux femelles observées.

2° En plein hiver la plupart des femelles n'ont effectué qu'une seule ponte après une longue période d'asthénie, accompagnée de prises de sang réitérées.

3° A la fin de l'hiver une femelle a accompli 4 pontes successives, mais le nombre global d'œufs pondus fut dans ce cas inférieur à celui observé chez les femelles élevées en été.

4° La longévité des femelles pendant la saison de la mousson d'hiver a été plus grande que pendant la mousson d'été.

5° Les femelles de *A. hyrcanus* var. *sinensis* de la souche étudiée, ayant effectué de nombreuses pontes, ont vécu de 5 à 8 semaines. En hiver les femelles semi-asthéniques ont été maintenues vivantes parfois jusqu'à 18 semaines.

6° Les observations démontrent que la longévité des *hyrcanus* éduqués au laboratoire en saison chaude et en saison froide de l'année est, pour ces deux saisons, en rapport inverse avec leur fécondité.

En effet la longévité est plus grande en hiver, mais à cette longévité ne correspond qu'une faible fécondité. Par contre la longévité est plus courte en été, mais la fécondité est plus grande.

La fécondité plus grande d'été peut, dans une certaine mesure, suppléer la longévité. Si par conséquent les individus affectés d'asthénie dans la saison de mousson d'hiver ont un contact plus long avec leurs hôtes, la fécondité qu'on observe en été, en augmentant le nombre des insectes adultes pendant cette saison chaude et pluvieuse de l'année, peut suppléer tout au moins en partie à une longévité individuelle plus faible.

Institut Pasteur de Hanoï. Service Antipaludique.

MÉMOIRES

LE THYMUS DES VEAUX ATTEINTS DE PESTE BOVINE EXPÉRIMENTALE DOIT-IL ÊTRE COMPRIS PARMI LES ORGANES A POUVOIR IMMUNIGÈNE ÉLEVÉ ?

Par G. LE ROUX et TRAN-NGOC-HOAN

Dans une note antérieure (*), nous avons exposé les résultats que nous avions obtenus dans l'étude de la valeur immunigène des amygdales des veaux atteints de peste bovine expérimentale. Nos conclusions, en accord avec celles des autres auteurs, étaient que les amygdales possèdent une valeur immunigène très prononcée, de 1 fois 1/2 à 3 fois plus élevée, en général, que celle des ganglions lymphatiques.

Dans des expériences parallèles, nous avons étudié la valeur immunigène du thymus comparativement à celle des ganglions lymphatiques. Ces expériences ont été conduites exactement comme les précédentes : les organes, prélevés chez les mêmes veaux, ont servi à la préparation d'émulsions au 1/4 au toluène ; les veaux utilisés passaient de 100 à 110 kg. ; l'épreuve qui comportait l'inoculation sous-cutanée de 2 cm³ de sang virulent citraté était régulièrement pratiquée 15 jours après la vaccination.

Première expérience

On prélève les ganglions lymphatiques et le thymus de 4 veaux, sacrifiés le jour 5 après l'inoculation. On prépare les émulsions ; 2 semaines après on fait un premier essai de vaccination, deux séries de 4 veaux sont utilisées à cet effet.

Voici résumée cette expérience :

1° *Vaccin ganglions lymphatiques.*

N° du veau	Quantité de vaccin	Signes observés à la suite de l'épreuve
4.682	0 cm³ 5	Réaction thermique plutôt modérée ; catarrhe oculo-nasal léger ; ulcération buccale.
4.681	1 cm³	Réaction thermique forte ; catarrhe oculo-nasal assez accentué ; diarrhée fugace.
4.677	2 cm³	Réaction thermique très modérée, sans plus.
4.678	4 cm³	Rien.

(*) G. Le Roux et Tran-Ngoc-Hoan. Etude de la valeur immunigène des amygdales des veaux atteints de la peste bovine expérimentale. *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. XXXII, n° 2, 1939, p. 182-187.

2° *Vaccin thymus.*

N° du veau	Quantité de vaccin	Signes observés à la suite de l'épreuve
4.765	1 cm³ 5	Réaction thermique assez forte ; catarrhe oculo-nasal ; diarrhée.
4.764	3 cm³	Réaction thermique assez forte ; catarrhe oculo-nasal ; diarrhée fugace.
4.763	6 cm³	Réaction thermique assez forte ; catarrhe oculo-nasal léger ; diarrhée pendant 5 jours.
4.762	12 cm³	Réaction thermique forte ; catarrhe oculo-nasal léger ; catarrhe intestinal.

Ainsi dans ce premier essai, tandis que 4 cm³ d'émulsion ganglionnaire confèrent une immunité parfaite au veau de 100 kg., 12 cm³ d'émulsion de thymus ne confèrent, dans les mêmes conditions, qu'une immunité médiocre.

Ces mêmes vaccins, conservés 5 semaines à l'obscurité et à la température ambiante (28°) ont été utilisés à un deuxième essai de vaccination qui a donné les résultats suivants :

1° *Vaccin ganglions lymphatiques.*

N° du veau	Quantité de vaccin	Signes observés à la suite de l'épreuve
4.777	1 cm³ 5	Réaction thermique assez forte ; catarrhe oculo-nasal accentué ; ulcérations buccales.
4.778	3 cm³	Légère indication thermique de quelques jours ; catarrhe oculo-nasal presque nul.
4.776	6 cm³	Irrégularités thermiques légères.

2° *Vaccin thymus.*

N° du veau	Quantité de vaccin	Signes observés à la suite de l'épreuve
4.781	6 cm³	Réaction thermique plutôt modérée avec reprise ; catarrhe oculo-nasal très prononcé ; diarrhée sanguinolente pendant 6 jours.
4.782	12 cm³	Réaction thermique forte ; catarrhe oculo-nasal ; ulcérations buccales ; diarrhée pendant 2 jours.
4.779	18 cm³	Réaction thermique forte ; catarrhe oculo-nasal ; diarrhée pendant 2 jours.
4.780	24 cm³	Réaction thermique plutôt modérée avec reprise ; catarrhe oculo-nasal léger ; catarrhe intestinal pendant 5 jours.

Le premier essai se trouve donc confirmé ; le vaccin à base de ganglions a une grande supériorité sur le vaccin à base de thymus : aucun des animaux qui avaient reçu l'émulsion ganglionnaire n'a présenté de diarrhée, celui qui avait reçu 3 cm³ a présenté des signes très modérés de peste, celui qui avait reçu 6 cm³ était immunisé de façon presque parfaite. Au contraire, les animaux qui avaient reçu l'émulsion de thymus ont, en général, présenté des signes graves de peste ; le moins atteint, celui qui avait reçu 24 cm³ d'émulsion, a présenté des signes encore importants, plus graves que ceux présentés par le veau 4.778 qui avait reçu 3 cm³ d'émulsion ganglionnaire.

Deuxième expérience

A partir de 2 veaux D-1 et D-2 sacrifiés le jour 5 après l'inoculation virulente, on prépare un vaccin à base de ganglions lymphatiques et un vaccin à base de thymus. Ces vaccins sont essayés 3 semaines après leur préparation.

Nous résumons cet essai ci-dessous :

1° *Vaccin ganglions lymphatiques.*

N° du veau	Quantité de vaccin	Signes observés à la suite de l'épreuve
4.864	1 cm³	Réaction thermique modérée brève ; catarrhe oculo-nasal assez prononcé ; ulcération buccale ; catarrhe intestinal pendant 2 jours.
4.865	2 cm³	Rien.
4.866	4 cm³	Réaction thermique assez forte ; catarrhe oculo-nasal léger ; ulcérations buccales ; diarrhée pendant 4 jours en 2 fois.
4.867	8 cm³	Réaction thermique très modérée brève ; catarrhe oculo-nasal léger.

2° *Vaccin thymus.*

N° du veau	Quantité de vaccin	Signes observés à la suite de l'épreuve
4.860	16 cm³	Peste mortelle en 12 jours.
4.861	20 cm³	Réaction thermique assez forte ; catarrhe oculo-nasal prononcé ; catarrhe intestinal pendant 3 jours.
4.862	28 cm³	Réaction thermique forte ; catarrhe oculo-nasal ; ulcération buccale ; diarrhée pendant 3 jours.
4.863	44 cm³	Réaction thermique assez forte ; catarrhe oculo-nasal prononcé ; ulcérations buccales ; diarrhée pendant 3 jours.

Quoique l'émulsion ganglionnaire soit d'une valeur inférieure à la moyenne, 8 cm³ de cette émulsion ne donnant pas une immunité parfaite, nous pouvons cependant déduire de cet essai que le vaccin à base de thymus a un pouvoir immunigène très inférieur : à part le veau 4.866 qui a fait une peste grave, des veaux qui avaient reçu l'émulsion ganglionnaire, un n'a présenté aucun signe, un autre a présenté une réaction pestique caractérisée mais sans diarrhée, le troisième a présenté des signes bénins ; les veaux qui avaient reçu l'émulsion de thymus ont tous présenté une peste grave sauf le veau 4.861 qui n'a pas présenté de diarrhée : 44 cm³ d'émulsion de thymus ont conféré au veau de 100 kg. une immunité inférieure à celle conférée par 1 cm³ d'émulsion ganglionnaire.

Troisième expérience

A partir de 9 veaux on prépare une émulsion de ganglions lymphatiques et une émulsion de thymus. Huit jours après la préparation, on procède à l'essai de ces émulsions : 5 veaux reçoivent respectivement 1 cm³, 2 cm³, 4 cm³, 6 cm³ et 8 cm³ d'émulsion ganglionnaire, 4 veaux reçoivent respectivement 10 cm³, 20 cm³, 30 cm³ et 40 cm³ d'émulsion de thymus.

A la suite de l'épreuve, parmi les animaux qui avaient reçu l'émulsion ganglionnaire, seul celui qui avait reçu 1 cm³ de vaccin présenta une très légère indication thermique, sans autre signe, les 4 autres résistèrent parfaitement.

Parmi les animaux qui avaient reçu l'émulsion de thymus, ceux qui avaient reçu 10 cm³, 20 cm³ et 30 cm³, firent une peste mortelle respectivement en 19, 12 et 17 jours, le 4ᵉ ne présenta aucun signe.

Quatrième expérience

On prépare à partir de 5 veaux, toujours dans les mêmes conditions que précédemment, une émulsion à base de ganglions lymphatiques et une émulsion à base de thymus. Huit jours après leur préparation ces émulsions sont employées à vacciner deux séries d'animaux :

Le tableau suivant résume cette expérience :

1° *Vaccin ganglions lymphatiques.*

N° du veau	Quantité de vaccin	Signes observés à la suite de l'épreuve
95	0 cm³ 5	Réaction thermique prolongée d'intensité moyenne ; catarrhe oculo-nasal léger.
96	1 cm³	Réaction thermique modérée ; catarrhe oculo-nasal.
97	2 cm³	Rien.
99	4 cm³	Rien.
98	8 cm³	Rien.

2° *Vaccin thymus.*

N° du veau	Quantité de vaccin	Signes observés à la suite de l'épreuve
—	—	—
110	8 cm³	Réaction thermique forte avec reprise ; catarrhe oculo-nasal prononcé ; diarrhée pendant 13 jours en 2 fois.
111	16 cm³	Peste mortelle en 17 jours.
112	30 cm³	Réaction thermique assez forte, plutôt brève ; catarrhe oculo-nasal ; diarrhée pendant 5 jours en 2 fois ; ulcération buccale.

Dans cet essai, le vaccin à base de thymus s'est encore montré très inférieur au vaccin à base de ganglions lymphatiques, 30 cm³ du premier vaccinant moins bien que 0 cm³ 5 du second.

Conclusions

Contrairement aux données formulées par plusieurs auteurs, il ressort des expériences que nous avons résumées ci-dessus, que, tout au moins chez les veaux de 10 mois à 2 ans que nous employons en Indochine pour la fabrication courante du vaccin antipestique, et qui à cette fin sont inoculés de peste bovine, la valeur immunigène du thymus est très inférieure à celle des ganglions lymphatiques. D'une façon générale nous pouvons admettre que le rapport d'activité de ces organes en faveur des ganglions, est au moins de 15 à 1 ; il peut être parfois de 60 à 1 (4° expérience).

Du point de vue pratique, le thymus est donc dépourvu d'activité intéressante. A l'Institut Pasteur de Nhatrang, à la suite de ces recherches, nous l'avons éliminé des organes utilisés à la préparation courante du vaccin antipestique.

Institut Pasteur de Nhatrang (Indochine).

LA VACCINATION CONTRE LE TYPHUS EXANTHÉMATIQUE EN TUNISIE. MODIFICATIONS APPORTÉES A LA TECHNIQUE DE PRÉPARATION ET D'INOCULATION DU VACCIN (*)

Par J. LAIGRET et R. DURAND

Le vaccin utilisé en Tunisie depuis près de 4 ans pour la vaccination contre le typhus est un vaccin *desséché* et *enrobé* qui con-

(*) Le présent mémoire développe une note à paraître *in Bull. Acad. Médec.* ; il rend compte des données expérimentales ainsi que des détails techniques qui n'ont pas pu prendre place dans la dite note.

tient, *vivant*, le virus d'un typhus bénin pour l'homme : le typhus murin.

Jusqu'à présent nous utilisions, comme matériel virulent pour fabriquer ce vaccin, les cerveaux des cobayes ou des rats infectés du typhus murin. Une modification vient d'être apportée à la technique : nous utilisons aujourd'hui les cerveaux *des souris* et nous nous proposons de montrer ici les avantages du procédé nouveau.

État actuel de la vaccination contre le typhus en Tunisie

Avec ce que nous appellerons le vaccin de cobaye ou de rat, on avait vacciné en Tunisie, en septembre 1937, trente-deux mille personnes. Un rapport détaillé a été publié sur ces trente-deux mille premières applications (*). Depuis, l'un de nous a inauguré la méthode en Chine. Entre temps les vaccinations tunisiennes, activement poursuivies par les médecins de la Santé Publique du Protectorat, ont atteint un total d'environ cent mille inoculations.

Les rapports qui seront publiés montrent que, partout où la vaccination a été mise en œuvre au cours d'une épidémie, celle-ci s'est arrêtée dans un délai de 15 à 30 jours. Il en a été ainsi dans tous les foyers vaccinés, quelle qu'ait été la saison, quelle qu'ait été l'ancienneté de l'épidémie. On ne peut donc pas parler d'arrêts spontanés ni invoquer de banales coïncidences. D'ailleurs dans les foyers non vaccinés les choses se sont passées et continuent de se passer de tout autre manière.

A l'époque actuelle, la majeure partie du territoire tunisien est envahie par le typhus. La mortalité est assez élevée : son taux, tel qu'il a pu être établi dans les hôpitaux de Tunis, est de 20 0/0. Au milieu de cette vaste poussée épidémique, tous les groupements vaccinés il y a un, deux ou trois ans, sont indemnes.

La situation la plus remarquée est celle de la vallée de la Medjerda. Région de première importance au point de vue agricole, la vallée de la Medjerda a été de tous temps un foyer de typhus, plus exactement une suite de foyers s'alignant depuis Medjez-El-Bab, au voisinage de Tunis, jusqu'à Ghardimaou, sur la frontière algérienne.

Ces « foyers permanents » se réveillaient tous les hivers. Lorsqu'une épidémie s'allumait en Tunisie, ils étaient toujours les premiers à flamber et parmi les plus actifs. On a pratiqué, depuis 1935,

(*) J. Laigret, R. Durand, J. Belfort et J. Lefaucheur. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 1937, t. XXVI, n° 3, pp. 454 619.

la vaccination systématique de ces foyers de la Medjerda et, cette année, au milieu de l'épidémie quasi-générale, ils sont restés entièrement silencieux ; preuve non seulement des bons effets de la vaccination mais de leur durée qui serait d'au moins trois ans, puisque c'est à ce délai que remontent les premières applications dans la région.

A l'aide de l'abondante documentation recueillie par la Direction de la Santé Publique, ces indications seront complétées plus tard dans un rapport détaillé; telles que nous les présentons ici, elles permettent déjà de faire en quelque sorte le point de nos vaccinations tunisiennes. On voit que l'impression est encourageante, elle explique la confiance que nos confrères accordent de plus en plus à la méthode.

Inconvénients de l'ancien vaccin non titré

Cette méthode pourtant, avec la technique du cerveau de cobaye ou de rat, était imparfaite. Son principal défaut était de ne comporter aucun titrage, aucune épreuve permettant de connaître la quantité de virus vivant, contenue dans une dose du vaccin. Nous nous efforcions bien d'effectuer les passages d'une manière régulière et la technique avait été fixée de telle façon que les échantillons soient aussi égaux que possible ; mais il peut y avoir, d'un passage à l'autre, des écarts de virulence qu'il était jusqu'à présent extrêmement difficile de contrôler.

Le seul contrôle possible de nos vaccins était leur inoculation dans le péritoine des cobayes et des rats. En principe, nous inoculions, par animal, de chaque vaccin, dix doses humaines. La plupart du temps les animaux ne réagissaient pas ; quelquefois, mais non toujours, ils se montraient ensuite immunisés.

Ces faits s'expliqueront tout à l'heure quand, à la lumière des nouvelles connaissances acquises précisément par l'emploi des souris, nous pourrons apprécier d'une manière plus exacte qu'on le faisait jusqu'à maintenant la sensibilité du cobaye et celle du rat. Ces animaux, en réalité, sont peu sensibles aux typhus, même au typhus murin. Ils réagissent, dans les conditions habituelles des expériences, parce que nous leur inoculons des quantités considérables de matériel virulent : un vingtième, un dizième de cerveau ou une part équivalente de tunique vaginale. De telles quantités sont énormes par rapport à celles que la vaccination se propose d'inoculer à l'homme et, à l'égard de quantités plus faibles, la réaction du cobaye ou du rat est tellement irrégulière qu'on ne peut pas compter sur elle.

Or, en deux circonstances, à la suite de l'emploi de deux vaccins de rat, on a observé une proportion anormale de réactions vaccinales, due vraisemblablement à une exaltation de la virulence des passages. Ce changement n'avait pas été remarqué, avec les seuls moyens de contrôle dont, à l'époque, nous disposions.

Nous avons une expérience déjà longue, et qui repose aujourd'hui sur des données solides, d'un autre vaccin vivant : celui de la fièvre jaune. Il est *titré*. Rappelons que son titrage s'effectue sur la souris. La sensibilité de la souris au virus amaril est très grande et elle se manifeste par un symptôme net, toujours régulier dans son apparition : la paralysie. De telle sorte qu'on peut prendre comme unité virulente (*unité-souris*) la quantité minima du virus, capable de provoquer la paralysie. Nos vaccins contre la fièvre jaune sont préparés de telle manière qu'ils contiennent toujours, par dose humaine, une quantité fixe d'unités-souris. Il y a là une garantie très importante du point de vue pratique.

Sensibilité de la souris au virus du thyphus murin

Rien ne laissait prévoir que le virus typhique murin se prêterait un jour à de semblables épreuves. Au contraire, les premiers passages sériés de ce virus sur la souris, dont l'étude avait été faite dès 1933 par l'un de nous en collaboration avec J. Jadin, avaient semblé montrer une sensibilité plutôt faible de la souris à l'égard de ce virus. Nous l'avions facilement entretenu, en partant du cobaye, au cours de 16 passages par souris, mais les animaux n'avaient réagi d'aucune manière, leur infection avait toujours été inapparente (*).

L'an dernier nous avons repris, en partant cette fois du rat, l'étude de la sensibilité de la souris au typhus murin (**). De toutes

(*) J. Laigret et J. Jadin. *Arch. Inst. Past. de Tunis*, 1933, t. XXI, n° 3, pp. 381-397. Nous avons des raisons de penser aujourd'hui que, s'il en a été ainsi au cours de nos essais anciens, c'est parce que nous étions partis du cobaye : d'un virus murin entretenu uniquement sur cobayes, par passages du cerveau dans le péritoine.

(**) Entre temps divers auteurs, en particulier P. Giroud, avaient signalé des infections typhiques murines graves, mortelles, chez la souris. A notre connaissance, la paralysie n'avait pas été signalée. Nos premières constatations sur la paralysie typhique des souris ont fait l'objet d'une communication à l'Académie des Sciences (*Comptes rendus*, t. 208, n° 9, p. 673). Elles ont été confirmées depuis par P. Giroud qui donne, parmi d'intéressants commentaires, une excellente description clinique de la maladie de la souris. Nous y renvoyons le lecteur (P. Giroud, *Bull. Soc. Path. Exotique*, 1939, n° 4, t. XXXII, pp. 404-409).

les expériences préliminaires, qu'il serait inutile de rapporter, nous n'en retiendrons qu'une, à cause de l'idée directrice qui semble intéressante :

Nous nous sommes demandé si, en mélangeant le virus typhique au virus amaril, nous ne pourrions pas « entraîner » ce virus typhique à produire la paralysie de la souris. Après un certain nombre de passages, la séparation s'effectuerait, par exemple, en neutralisant le virus amaril par un sérum protecteur spécifique. Le virus typhique resterait alors seul, adapté peut-être à la fonction paralysigène que nous désirions en vue de son titrage.

Pour cette expérience nous avons naturellement divisé nos souris en plusieurs lots : les unes ont reçu le mélange de virus typhique et de virus amaril ; d'autres, servant de témoin, un seul des deux virus. Toutes les combinaisons possibles ont été réalisées en utilisant tantôt la voie péritonéale, tantôt la voie intracérébrale, tantôt les deux conjointement ou séparément pour l'un et l'autre virus. Une constatation inattendue a abrégé l'expérience : dès le premier passage, certaines des souris qui avaient reçu uniquement le virus typhique (voie péritonéale) ont montré la paralysie. Le résultat était acquis d'emblée, sans que l'entraînement de la part de l'autre virus se soit avéré nécessaire.

La souche typhique ainsi devenue paralysigène était la souche tunisienne « Port I » de Ch. Nicolle et H. Sparrow. En même temps, nous avions passé à la souris une autre souche tunisienne de typhus murin, la souche « Marché » ; cette deuxième souche donna aussi la paralysie de la souris.

Nous n'avons pas réussi tout de suite à paralyser toutes les souris. La voie intracérébrale, en particulier, ne nous donna d'abord que des échecs : probablement parce que la quantité de virus qu'on peut inoculer par cette voie est faible. Mais assez rapidement nous sommes parvenus à entretenir régulièrement la paralysie, par l'une et l'autre voie, avec une incubation fixe de 5-7 jours.

Aujourd'hui nous menons de front trois séries de passages :

1° *Souche « Port » entretenue sur la souris par la voie péritonéale* (cerveau dans péritoine). — On a effectué, dans cette série, 15 passages.

Après quelques manques au début, toutes les souris sans exception ont été paralysées à partir du 5e passage. Au 15e et dernier passage, la série, volontairement interrompue dans le but d'économiser des animaux, se termine sur les constatations suivantes : paralysie de 3 souris sur 3 inoculées, présence de rickettsies nombreuses dans leurs péritoines.

Les cerveaux des souris paralysées ont servi à inoculer des cobayes et des rats de contrôle (*).

Tous les passages-souris jusqu'au 14e (dernière épreuve) ont donné la fièvre typhique du cobaye ; l'orchite dans la proportion de 50 o/o ; l'immunité pour 9 animaux, sur 12 qui furent éprouvés. La série se termine au 14e passage-souris par fièvre, orchite et immunité du cobaye de contrôle.

Tous les passages-souris jusqu'au 14e (dernière épreuve) ont donné la fièvre du rat. Trois fois (cerveaux des souris des 7e, 9e et 11e passage) le typhus transmis au rat a été mortel, une fois après une phase nette de paralysie. La série se termine au 14e passage-souris par : fièvre des rats, présence de rickettsies chez un rat sacrifié, immunité d'un autre rat non sacrifié et ultérieurement éprouvé.

En définitive, dans cette série incomplètement poussée, le typhus murin de la souche « Port » s'est rapidement adapté à la souris à la suite de l'inoculation intrapéritonéale. Il a conservé intégralement jusqu'au 15e passage intrapéritonéal le pouvoir de provoquer la paralysie. L'adaptation à la souris semble avoir exalté la virulence. Nous avons, comme indices de cette exaltation, la régularité et l'intensité de la fièvre des cobayes et des rats, la fréquence de l'orchite chez le cobaye, une fois la paralysie mortelle du rat.

Nous ne pouvons pas chiffrer exactement le degré de la virulence parce que, pour cette série, incomplètement étudiée nous le répétons, il n'a pas été fait de titrages. Il sera intéressant de la reprendre et de voir si la virulence a tendance à se maintenir élevée ou, au contraire, à baisser et à se fixer comme cela s'est produit dans la série suivante concernant la souche « Marché ».

2° *Souche « Marché » entretenue sur la souris par la voie péritonéale* (cerveau dans péritoine). — Cette série en est actuellement au 25e passage par souris.

Jusqu'au 3e passage inclus, sur un total de 9 souris, 2 seulement ont montré la paralysie. Les autres, ou bien sont mortes sans que la paralysie ait été constatée, ou bien ont survécu. La paralysie a été régulière à partir du 4e passage. Pour l'heure présente, les observations se terminent par celles du 25e passage : 4 souris paralysées sur 4 inoculées.

Les cobayes de contrôle des 2 premiers passages-souris ont montré la fièvre et l'orchite, ils ont fourni à l'épreuve ultérieure la preuve de leur immunité. Ensuite la fièvre des cobayes est devenue irrégulière, le plus souvent nulle. Jusqu'au 8e passage-souris, les cobayes de contrôle, qu'ils

(*) Chaque animal a reçu, dans le péritoine, de 1/3 à 1/2 cerveau de souris. Il en sera de même dans les autres séries.

aient ou qu'ils n'aient pas présenté la fièvre, ont été immunisés. On a eu encore au 19e passage l'immunité d'un cobaye qui n'avait pas réagi fébrilement. Entre temps, les cobayes des 9e et 10e passages-souris ne se sont pas infectés, même de manière inapparente. Les constatations relatives aux cobayes de contrôle se terminent actuellement pour le 21e passage-souris par un résultat négatif : absence de fièvre (animal réservé pour être éprouvé ultérieurement).

Les contrôles sur les rats n'ont été faits qu'à partir du 4e passage : fièvre typique et immunité consécutive. A partir du 6e passage, la fièvre du rat est devenue moins nette. Malgré cela, les rats correspondant au 8e et 9e passages-souris ont présenté après des fièvres légères la paralysie et celle-ci a entraîné leur mort. A partir du 10e passage, les rats ne semblent plus s'être infectés. Toutefois depuis le 16e passage-souris, nous recommençons à observer, chez les rats de contrôle, de légères fièvres.

On peut résumer et commenter ainsi les résultats concernant cette série :

La souche « Marché », passée par voie péritonéale, s'est adaptée à la souris régulièrement à partir du 4e passage. Au 25e, elle continue de déterminer très régulièrement la paralysie. A l'égard des cobayes et des rats le pouvoir pathogène a manifestement faibli. Depuis de nombreux passages nous ne parvenons plus à infecter ces animaux, ni fébrilement ni, sauf une exception au 19e passage, sous la forme inapparente.

La baisse de la virulence a été vérifiée par deux titrages, opérés l'un au 21e passage, l'autre au 23e passage-souris. Le taux a été, dans l'un et l'autre cas, de 10.000 unités virulentes par cerveau de souris (pas de paralysie avec 1/100.000). Ceci nous explique qu'avec le tiers, la moitié, ou même la totalité de tels cerveaux, nous ne puissions plus obtenir le typhus des cobayes et des rats lesquels exigent pour s'infecter, comme nous le verrons, des quantités beaucoup plus considérables de virus.

La série est donc doublement intéressante parce que, d'une part, elle nous montre la modification qualitative du virus (adaptation assez rapidement acquise à la paralysie de la souris) et, d'autre part, une modification quantitative laquelle semble s'être fixée, sous réserve de nouvelles épreuves, au taux faible de 10.000 unités virulentes par cerveau ; taux largement suffisant pour entretenir la paralysie des souris mais insuffisant pour infecter des animaux moins sensibles, tels que cobayes et rats. Nous dirons l'emploi avantageux qu'on peut faire d'une souche ainsi atténuée pour la préparation du vaccin.

3° *Souche « Marché » entretenue sur la souris par la voie intracérébrale.* — Cette série a été dérivée de la précédente : comme nous n'avions pas réussi à paralyser la souris par la voie

intracérébrale en partant du rat, nous avons utilisé dans ce but le cerveau d'une souris des passages péritonéaux. La souche avait alors subi 4 passages péritonéaux et, depuis, elle a subi 19 passages intracérébraux; donc, en tout 23 passages par souris.

Le changement apporté dans la voie d'inoculation n'a pas troublé la régularité des paralysies; au contraire, celles-ci se sont montrées plus précoces, l'incubation s'étant raccourcie de 6-7 jours à 5, parfois même 4 jours.

Le développement, dans le cerveau de la souris, du virus introduit directement par trépanation est intense. Il représente une culture d'une extrême richesse. Les titrages montrent que de tels cerveaux peuvent contenir jusqu'à 10 millions d'unités virulentes. Autrement dit, une unité inoculée dans le cerveau d'une souris peut y fournir en 4-5 jours 10 millions d'unités ; c'est bien une véritable et abondante culture qui se trouve ainsi réalisée *in vivo*.

Les cobayes inoculés avec de tels cerveaux présentent régulièrement la fièvre ; l'incubation est courte, la température élevée, l'orchite est fréquente.

Les rats également ont des fièvres précoces, élevées, qui entraînent la mort des 3/4 d'entre eux. Chez 5 rats, la mort a suivi une phase nette et assez longue (plus longue que chez les souris) de paralysie. Tous les rats morts ou sacrifiés avaient des rickettsies en quantité considérable dans la cavité péritonéo-vaginale (*).

En résumé, ce qui caractérise cette série, c'est la forte exaltation de la virulence qui s'est manifestée au cours des passages intracérébraux. Le virus n'a pas pu, jusqu'à présent du moins, s'adapter directement à la souris par la voie cérébrale, en partant du rat; mais une fois l'adaptation réalisée au moyen de quelques passages péritonéaux, l'inoculation intracérébrale s'est révélée comme une voie très active. On ne peut pas mieux comparer ses effets qu'à ceux de l'inoculation dans l'intestin du pou pour le renforcement du virus historique ; et, de fait, quand on examine le péritoine d'un rat inoculé avec le virus intracérébral de souris, l'abondance des rickettsies y est telle que le frottis ressemble à celui de l'intestin d'un pou inoculé suivant la méthode de Weigl.

Cette richesse de développement du virus dans le cerveau des souris directement inoculées par trépanation est confirmée par le titrage. Au dernier passage, le 19e, le taux de la virulence a atteint 10 millions d'unités. A ce taux, le virus serait présent dans 1 cm^3 de la suspension d'un cerveau dans 10.000 litres. Une telle richesse

(*) Ces signes de haute virulence se sont maintenus intégralement au cours de 15 passages intracérébraux de souris à souris. Il semble que, depuis le 16e passage, des réactions un peu moins vives soient observées chez les cobayes et les rats de contrôle.

en virus typhique est comparable à celle des excréments de puces dont la haute virulence est utilisée par G. Blanc et ses collaborateurs pour la préparation de leur nouveau vaccin au Maroc.

Titrage du virus typhique de souris

Le titrage s'effectue à l'aide d'une technique simple qui peut s'appliquer aussi bien aux cerveaux frais qu'aux poudres de matière cérébrale, desséchée et enrobée, qui servent à fabriquer le vaccin et dont nous parlerons tout à l'heure.

Pour titrer un cerveau frais, on le broie au mortier dans 10 cm^3 d'eau physiologique puis, à partir de cette première suspension, on prépare des dilutions au 1/10, au 1/100 ... etc. Chaque dilution est inoculée à au moins deux souris.

Pour les inoculations, on peut utiliser soit la voie péritonéale, soit la voie cérébrale. Il est recommandable de titrer par la voie cérébrale un virus adapté à la voie cérébrale et inversement, par la voie péritonéale, un virus adapté aux passages péritonéaux. En réalité, la plupart du temps, nous avons fait deux titrages parallèles, en utilisant les deux voies, et les résultats ont toujours concordé.

Dans le péritoine, nous inoculons 0 cm^3 5 de chaque dilution ; il est facile de calculer que les souris reçoivent ainsi : 1/20, 1/200, 1/2.000 ... etc. ... de cerveau. Par la voie cérébrale nous inoculons (avec la seringue à tuberculine) 0 cm^3 01 de telle sorte que les souris reçoivent 1/1.000, 1/10.000, etc. ... de cerveau.

On observe les souris inoculées et on note les paralysies. L'observation exige un soin particulier car généralement la phase paralytique est de courte durée ; elle échappe si on ne s'astreint pas à visiter les souris plusieurs fois par jour (*). L'épreuve est terminée au 12e jour. Son résultat indique la dilution maxima active susceptible de paralyser les souris, et, par conséquent, évaluée en *unités-souris*, la teneur en virus du matériel soumis au titrage.

Le titrage du virus typhique de souris s'est montré, comme celui du virus amaril, régulier et précis. Il permet, pour le vaccin du typhus comme pour celui de la fièvre jaune, d'avoir une mesure de la virulence ce qui, nous y insistons, est d'une grande importance pratique dans l'emploi d'un vaccin vivant.

Indications fournies par le titrage et observations sur cette épreuve

Une remarque est d'abord nécessaire.

Nous titrons maintenant le virus du typhus, comme nous le faisions déjà de celui de la fièvre jaune, en nous servant, comme indi-

(*) Il est vrai que sur le cadavre, en général, la position caractéristique des pattes postérieures rejetées en arrière permet le diagnostic rétrospectif.

cateur, de la souris et en adoptant, comme unité virulente, la quantité minima capable de faire apparaître la paralysie. Il est de toute évidence que l'épreuve exige, en premier lieu, le pouvoir, de la part du virus, de paralyser la souris ; on ne pourra donc titrer qu'un virus déjà « adapté », et adapté depuis plusieurs passages à la paralysie de la souris. L'épreuve ne pourra pas servir par exemple à titrer un cerveau de cobaye puisqu'à partir de cet animal nous ne sommes pas parvenus encore, avec nos souches tunisiennes, à infecter la souris autrement que sous la forme inapparente. On obtient la paralysie des souris en partant du rat et c'est de cette manière, nous l'avons vu, que nos séries de passages par souris ont été inaugurées mais, dans de pareilles conditions, l'adaptation à la souris n'est pas d'emblée assez régulière, assez parfaite, pour qu'on soit autorisé à considérer l'épreuve comme une mesure exacte de la virulence du matériel de rat. Il en résulte que, dans le domaine pratique du vaccin, puisque c'est avant tout à la préparation du vaccin que le titrage doit nous servir, nous ne devrons utiliser que les souches bien adaptées à la paralysie de la souris ; c'est ce que nous faisons déjà.

Si on ne peut pas véritablement titrer un virus en provenance directe du rat, on peut tout de même comparer l'action sur les souris de deux cerveaux de rats, ou bien encore de deux organes différents du même rat. L'expérience a été faite ; elle a donné un résultat curieux que nous croyons intéressant de signaler :

Un rat R. 84, des passages d'entretien de la souche Marché (passages réguliers de rat à rat), a été sacrifié au 6e jour après l'inoculation, premier jour de la fièvre. On a prélevé séparément les deux hémisphères cérébraux et le cervelet. L'un des hémisphères a été titré frais, immédiatement après le prélèvement : seules ont été paralysées les souris qui ont reçu 1/20 de l'hémisphère ; celles qui ont reçu 1/200 et les dilutions au delà ont survécu. Le deuxième hémisphère a été conservé 8 jours au frigorifique puis, desséché et enrobé (au jaune d'œuf), il a été titré à son tour : même virulence faible, inférieure à 200 unités. Le cervelet, conservé au frigorifique également 8 jours, a été titré sans dessiccation ni enrobage : nous voulions, par comparaison avec le titrage du premier hémisphère, nous assurer que le séjour au frigorifique n'avait pas altéré la virulence. Ce cervelet a paralysé les souris, avec présence de rickettsies dans leurs péritoines, jusqu'à la dilution 1/20.000. Par conséquent, l'épreuve a donné le même résultat pour les deux moitiés du cerveau, l'une fraîche, l'autre conservée et desséchée, mais un résultat tout à fait différent pour le cervelet ; comme si celui-ci était beaucoup plus riche en virus, ou bien, peut-être, comme si le virus du cervelet était plus directement adaptable à la souris.

Nous avons en cours des expériences destinées à évaluer la sensibilité au typhus des divers animaux de laboratoire. Certaines précisions ont pu être acquises déjà au sujet du cobaye et du rat.

Il faut, d'un virus adapté à la souris, 400.000 unités pour donner au cobaye (par la voie du péritoine) le typhus fébrile ; avec des doses moindres, on échoue et l'animal n'est pas toujours immunisé.

Plus sensible, le rat s'infecte avec de 25.000 à 50.000 unités ; la fièvre est nette et il y a développement des rickettsies dans la cavité péritonéale. Le développement des rickettsies devient intense avec une dose 10 fois plus forte. Avec 5.000 et 8.000 unités, nous avons obtenu l'infection inapparente et immunisante du rat.

Conservation du virus typhique de souris

Faisant allusion précédemment aux travaux de l'Institut Pasteur du Maroc, nous avons rappelé qu'en ce moment même G. Blanc et ses collaborateurs mettent au point une méthode de vaccination contre le typhus qui utilise les crottes des puces. Par brossage et par étrillage du pelage des rats infectés du typhus murin, on récolte un matériel très riche en virus et dans lequel le virus se conserve très longtemps actif. Les auteurs ont constaté en effet que, dans un tube placé sans aucune précaution spéciale à la température ordinaire, les excréments des puces restent virulents pendant des semaines ; et G. Blanc suppose que c'est l'absence d'éléments cytologiques, la position extra-cellulaire du virus, qui permet sa longue vitalité dans les crottes d'insectes alors que, dans tout autre milieu, jusqu'à présent, il la perdait vite, à moins qu'on ait recours au procédé de la congélation, dont nous avons été les premiers à signaler les avantages (1). Or, les cerveaux des souris, non seulement peuvent être très riches en virus mais, eux aussi, sont susceptibles après dessiccation de conserver longtemps leur activité. Dans l'état actuel de nos expériences, le virus de souris se conserve au moins 95 jours au frigorifique et au moins 7 jours, sans baisse notable, à la température de 20-25°.

La virulence n'est pas altérée par la dessiccation en présence de phosphate de soude anhydre. Elle résiste à l'action de la glycérine pendant au moins 3 jours à la température ordinaire. Enfin une suspension en eau physiologique a été conservée pendant 15 jours à la glacière (+ 5°) sans perte notable de son activité.

Ces données, qui nous semblent appeler une explication autre que celle de G. Blanc (à savoir : l'état extra-cellulaire du virus), suffisent pratiquement pour assurer la conservation du vaccin vivant au cours des transports qu'on sera amené à lui faire subir

(1) J. Laigret et R. Durand. *Arch. Inst. Past. Tunis*, 1933, t. XXII, n° 3, pp. 499-504.

par la poste ou, pour les longs trajets, dans les frigorifiques des bateaux. Nous retrouvons ainsi, pour la pratique des vaccinations contre le typhus, les avantages que nos collègues du Maroc ont reconnu aux crottes de puces, avec, semble-t-il, une plus grande facilité d'atteindre la pureté de préparation.

Préparation du vaccin de souris

La technique a été réglée sur l'emploi de la souche Tunis-Marché. Nous avons vu qu'avec cette souche, en mettant à profit l'abaissement de la virulence par les passages péritonéaux et son exaltation par les passages cérébraux, on peut obtenir toute la gamme des activités que l'on désire. Pour l'instant, nous n'utilisons en principe que les cerveaux provenant de la série péritonéale. Leur titre est fixé entre 1.000 unités (ce que nous représentons par le signe +) et 10.000 unités (++).

Un cerveau sert à préparer 1.000 doses de vaccin. Dans ces conditions, on a des vaccins + qui titrent 1 unité par dose et des vaccins ++ qui titrent 10 unités.

Le cerveau, aseptiquement récolté, est conservé au frigorifique au moins le temps nécessaire au contrôle bactériologique du prélèvement. Il est ensuite broyé avec 40 cm^3 de jaune d'œuf et 12 g. 50 de phosphate de soude anhydre (*). Après 48 heures de dessiccation à la glacière dans le vide, la poudre est rebroyée, tamisée, contrôlée sur les milieux courants de culture et titrée.

Le titrage s'opère à l'aide de dilutions de la poudre, telles que les souris reçoivent dans le péritoine des fractions connues : 1/1.000, 1/10.000..., etc..., de cerveau desséché. On fait également un contrôle sur souris par la voie intracérébrale.

Les résultats obtenus, d'après la paralysie ou la survie des souris, permettent de classer les vaccins en vaccins + (1 unité par dose) et ++ (10 unités). Les vaccins de teneur plus élevée ne sont pas utilisés tels quels, mais seulement après une atténuation dont nous parlerons tout à l'heure (**).

Pendant le temps que dure l'épreuve du titrage, les poudres vaccinales sont conservées au frigorifique. Elles sont ensuite réparties

(*) Ces quantités ont été calculées pour faire 50 g. de produit sec, soit 1.000 doses de 0 g. 05.

(**) Exceptionnellement, pour nos essais préliminaires sur l'homme, nous avons utilisé des vaccins dont le titre a atteint et dépassé 100 unités. Il n'en est résulté aucun inconvénient. La pratique pourrait donc en être reprise. Elle ne nous paraît pas nécessaire pour le moment.

en ampoules ou bien, pour les séances nombreuses de vaccination, comprimées en tablettes de 20 doses, comme nous le faisions pour l'ancien vaccin.

Premières applications ; résultats (*)

Les essais ont été conduits progressivement depuis le 7 mars. A l'heure actuelle, en ne tenant compte que des vaccinations remontant à plus d'un mois, celles pour lesquelles, par conséquent, l'époque est passée où des réactions auraient pu se produire, le bilan s'établit comme suit :

1 unité par dose . . .	1.400	vaccinations
10 unités par dose. . .	2.191	—
100 unités par dose. . .	3.476	—
Total. . .	7.067	—

Les 6.756 premières inoculations ont été faites avec le vaccin de souris repris, au moment de l'emploi, en suspension huileuse, comme nous utilisions l'ancien vaccin de cobaye ou de rat. La garantie de sécurité offerte par le titrage nous a paru telle qu'on puisse supprimer l'enrobage huileux et se contenter de l'unique enrobage au jaune d'œuf (comme pour le vaccin de la fièvre jaune). 311 vaccinations ont été faites depuis plus de 3 semaines, et plusieurs milliers d'autres sont en cours, avec le vaccin simplement repris en eau distillée (**). Cette technique facilite considérablement les opérations et représente un progrès très apprécié par les vaccinateurs.

Sur l'ensemble des 7.067 vaccinés, on nous a signalé 2 malades, l'un et l'autre de typhus épidémique apparu dans les 10 premiers jours. Il s'agit donc de sujets vaccinés alors qu'ils étaient déjà en incubation de typhus, ce qui est inévitable dans les conditions où nous opérons et surtout dans les circonstances épidémiologiques actuelles. L'un des deux vaccinés a commencé son typhus le soir même de la vaccination. Toute sa famille, en dehors de lui non vaccinée, a été atteinte. Le cas de ce vacciné est intéressant pour la raison suivante :

Il a été inoculé avec un vaccin ++ (10 unités par dose). Le

(*) Nous exprimons nos plus vifs remerciements aux médecins de la Santé Publique de Tunisie, en particulier au docteur Dupoux, leur Directeur, aux médecins inspecteurs Belfort et Dignat, aux docteurs Priet et Pietrini, dont la précieuse collaboration a permis de mener à bien ces essais.

(**) La quantité de phosphate contenue dans le vaccin assure l'isotonie.

soir même, début d'un typhus assez grave mais qui a guéri. Le 15e jour, qui s'est trouvé être celui de la défervescence, on a prélevé du sang et on a inoculé des cobayes et des rats. Le premier passage n'a pas donné des résultats nets. On a sacrifié un cobaye et on a fait un second passage, lequel a donné : fièvre du rat, fièvre du cobaye avec orchite. Par conséquent chez ce vacciné, inoculé il est vrai dans des conditions très spéciales, au début d'un typhus historique, il y a eu développement du virus vaccinal dans le sang. Cette considération nous a conduits à penser que, du moins pour l'instant, il n'était pas indiqué de dépasser, dans la pratique courante, le titre de 10 unités, bien que, rappelons-le, 3.476 vaccinations d'essai à 100 unités aient été faites déjà sans inconvénient.

Programme des nouvelles vaccinations contre le typhus en Tunisie

La substitution du vaccin de souris à l'ancien vaccin est chose faite. Les mêmes équipes de vaccinateurs spécialisés vont, sous la direction de la Santé Publique, inoculer le nouveau produit comme ils faisaient de l'ancien, dans les foyers de typhus de l'intérieur. Ces équipes ont rendu et continuent de rendre des services très appréciés ; leur maintien est souhaitable.

A côté de leur action éminemment utile et indispensable, on peut en envisager une autre, susceptible de la compléter. Le nouveau vaccin peut s'expédier. Il peut, avec certaines précautions dont il serait facile de vérifier l'exécution, se stocker : par exemple, il pourrait sans inconvénient être conservé, pendant quelques jours, par des médecins disposant d'un frigidaire de ménage ou d'une glacière. L'emploi du nouveau vaccin ne nécessite qu'un matériel courant de seringues et d'aiguilles. Il est donc possible de mettre le produit à la disposition des médecins du bled, du moins de certains d'entre eux qui, depuis plusieurs années, collaborent avec nous d'une manière tellement étroite, qu'ils sont tout à fait capables de diriger eux-mêmes les opérations dans leur secteur. La vaccination y gagnera une rapidité d'expansion que les circonstances épidémiologiques actuelles rendent tout à fait désirable.

Il est reconnu qu'en Tunisie, dans les campagnes, une vaccination en plusieurs temps rencontre des difficultés à peu près insurmontables. Nous sommes obligés de recourir à la vaccination en un temps. Nous avons convenu que l'inoculation unique se ferait avec le vaccin ++ contenant 10 unités par dose. Dans le cas où ce choix se montrerait insuffisant à la pratique, rien n'empêcherait d'utiliser un vaccin plus actif, ce qui a été fait déjà sur plus de

3.000 personnes. Ce renforcement de la vaccination, par paliers, nous apparaît une méthode prudente et recommandable.

Les arabes urbanisés et les européens, particulièrement sensibles à l'infection typhique, doivent être traités d'une manière différente. Pour eux, une vaccination en trois temps est possible. Voici comment nous l'avons réglée :

Le premier vaccin est complètement atténué, il ne paralyse plus la souris, à aucune dilution. Nous le préparons avec un matériel très riche en virus, tel que les cerveaux des souris des passages intracérébraux. Nous exposons ces cerveaux à l'étuve et nous contrôlons ensuite leur inactivation. Le vaccin obtenu ainsi est donc un vaccin mort. Il ne serait pas suffisant pour protéger contre le typhus. Il ne sert qu'à préparer l'organisme à la deuxième inoculation.

Le deuxième vaccin est virulent. Sa virulence correspond au premier degré du titrage, soit à +. Il contient donc une unité-souris par dose.

Le troisième vaccin est le vaccin ++ qui sert pour les vaccinations en un temps dans le bled.

Les intervalles ont été fixés en principe à une semaine entre premier et deuxième vaccin, trois semaines entre deuxième et troisième. L'opération est complète en un mois.

Cette vaccination fractionnée, dont nous ne pourrons juger les résultats qu'à l'usage, paraît devoir parfaitement convenir à la protection de cette partie de la population nord-africaine pour qui des conditions particulières de race et d'existence créent, à l'égard du vaccin, une sensibilité dont il faut tenir compte.

Résumé et conclusions

Il a été fait en Tunisie, depuis 3 ans et demi environ, 100.000 vaccinations contre le typhus à l'aide d'un vaccin vivant, desséché et enrobé, dont nous avons fait connaître la composition. Les résultats sont plus qu'encourageants. A l'heure actuelle, où le territoire est envahi d'une manière assez sérieuse par le typhus, toutes les populations vaccinées restent indemnes. Tous les anciens foyers vaccinés sont silencieux bien que, pour certains d'entre eux, la vaccination y soit ancienne de plus de 3 ans.

Le vaccin, préparé jusqu'à présent avec des cerveaux de rats ou de cobayes, avait le défaut de ne se prêter à aucun étalonnage de la virulence. Nous manquions d'animaux-réactifs suffisamment sensibles pour réagir à de petites quantités de virus, celles que précisément la vaccination se propose d'inoculer à l'homme.

La constatation de la sensibilité de la souris a levé cet obstacle.

Deux souches tunisiennes de typhus murin ont été adaptées à la souris; elles provoquent maintenant régulièrement, chez cet animal, la paralysie mortelle.

La sensibilité de la souris au typhus paralytique est telle qu'elle permet de mettre en évidence des doses infinitésimales du virus, de l'ordre du dix millionième de cerveau.

Les passages intracérébraux de souris à souris ont déterminé une exaltation de la virulence qui se traduit, lorsqu'on retourne de la souris au cobaye ou au rat, par des typhus d'une exceptionnelle intensité, avec une richesse très grande du développement des rickettsies. Au contraire, par passages uniquement intrapéritonéaux (cerveau dans péritoine) la virulence s'est fixée à un taux moyen plutôt faible, de 10.000 unités par cerveau. Ce sont ces cerveaux que nous utilisons pour préparer le vaccin.

Le titrage s'effectue par une technique simple de dilution et d'inoculations sériées aux souris. Leur paralysie ou, au contraire, leur survie permet d'évaluer la virulence du matériel éprouvé. La vaccination du typhus acquiert ainsi la précision et les garanties de sécurité qui ont si largement facilité l'emploi du vaccin de la fièvre jaune.

Le vaccin de souris desséché, enrobé et titré, a été essayé sur plus de 7.000 personnes avec des résultats satisfaisants, au point de vue de son innocuité et de son efficacité. Il est complètement substitué maintenant à l'ancien vaccin de cobaye ou de rat pour la continuation des vaccinations tunisiennes.

L'activité de ce vaccin se conserve pendant des mois au frigorifique, pendant au moins une semaine (les essais n'ont pas encore été poussés au-delà) à la température ordinaire ; ce qui, pratiquement, permet le stockage et l'expédition par la poste dans des limites assez étendues.

Les indigènes des campagnes continuent de recevoir une inoculation unique, seule pratique qui convienne aux conditions particulières de la vaccination dans le bled. Le titre, pour la vaccination en un seul temps, a été fixé à 10 unités par dose ; mais des essais ont montré que cette quantité peut être dépassée. Elle le sera, par paliers, si la nécessité de renforcer le vaccin se fait sentir.

Les arabes urbanisés et les européens sont traités en trois fois, à l'aide d'une vaccination graduée qui débute par un vaccin réduit au maximum d'atténuation (non actif sur les souris) et qui s'achève par le vaccin courant à 10 unités.

Cette nouvelle organisation nous semble constituer un progrès important pour la vaccination contre le typhus, vaccination dont l'extension est de plus en plus demandée, tant par les hygiénistes

que par les représentants de l'administration tunisienne et du protectorat, en raison de l'état épidémiologique actuel, lequel fait précisément ressortir, d'une manière tout à fait favorable, les résultats des vaccinations antérieures. La technique qui vient d'être mise au point, en apportant des facilités et des garanties nouvelles aux applications de la méthode, ne pourra qu'améliorer encore ces résultats.

Institut Pasteur de Tunis.

ICTÈRES INFECTIEUX FÉBRILES AVEC SPIROCHÉTURIE

Par P. MELNOTTE et G. RUMEAU

L'extension rapide au cours de ces dernières années de la spirochétose ictérohémorragique d'Inada et Ido, actuellement connue sous le terme de leptospirose, dans le domaine clinique et dans le domaine épidémiologique, en en révélant le polymorphisme clinique a montré les difficultés de son diagnostic. Si celui-ci reste facile à poser dans les formes régulières comprenant la réunion des trois syndromes d'atteintes hépatique, rénale et méningée, il est beaucoup plus malaisé dans les formes monosyndromiques connues depuis peu et qui ont fait l'objet de nombreux rapports au XXV[e] Congrès français de Médecine de Marseille (10-12 novembre 1938). Le rôle du laboratoire, capital dans ces formes anormales, n'en est pas moins essentiel dans les formes régulières ; car lui seul peut apporter par l'examen direct, mais surtout par l'inoculation et le sérodiagnostic, soit la confirmation d'un diagnostic attendu, soit la révélation d'une affection insoupçonnée.

Mais, pour garder toute sa valeur, cette confirmation doit être globale, associant les preuves bactériologiques directes et les preuves biologiques indirectes. Une spirochéturie constatée au cours d'un ictère ne suffit pas à le ranger dans le cadre des leptospiroses, même s'il en présente le type clinique.

C'est le cas des deux observations suivantes :

Observation I. — Lor... Marcel, 22 ans, entré à l'hôpital le 3 novembre 1938 pour ictère. La maladie a débuté en pleine santé le 30 octobre 1938 par une sensation de malaise avec asthénie, céphalée et courbature. Le 31 la céphalée est plus vive et la température atteint 39°9 ; admis à l'infirmerie il présente le 3[e] jour une température de 38°3 et se plaint en outre de lombalgie apparue depuis 24 heures. Le 4[e] jour apparaît une épigastralgie avec vomissements bilieux peu abondants et une légère teinte ictérique des téguments et des conjonctives, la céphalée est très

vive. Le 5e jour la température est à 36°8, le pouls à 65 et le malade est admis à l'hôpital pour ictère.

On constate à l'entrée qu'il présente un ictère franc. Les selles sont colorées; les urines très foncées, contiennent en forte quantité des pigments et des sels biliaires, mais ne renferment pas d'albumine. Le foie est légèrement augmenté de volume et douloureux à la palpation, le pôle inférieur de la rate est accessible sous le rebord costal gauche. Il n'y a ni herpès, ni réaction méningée. L'examen clinique ne montre aucun autre symptôme. Température 36°8, pouls 56, tension artérielle 120-50, indice oscillométrique 4 (Pachon).

Les jours suivants, la température se maintient entre 36°4 et 37°2, le pouls est encore ralenti, mais l'ictère fonce rapidement et le 6 novembre (8e jour) il offre l'aspect « flamboyant » classique. Les selles sont colorées et il n'apparaît aucun symptôme nouveau ; les examens humoraux montrent d'une part que l'azotémie s'élève légèrement à 0,40 o/oo pour s'abaisser ensuite à 0,26 o/oo au moment de la sortie, et d'autre part que la cholestérolémie, normale à l'entrée (1,60 par litre de sérum), s'élève progressivement à 2 g. 56 pour atteindre un taux avoisinant la normale : 1,90 à la convalescence.

Or, le 9 novembre, 11e jour de la maladie, le culot de centrifugation des urines montre à l'examen direct sur lames (méthode de Fontana-Tribondeau) la présence de nombreux spirochètes ayant la morphologie du *Leptospira ictero-hemorragiae*. Le 12e jour la spirochéturie est plus abondante encore. Le diagnostic de leptospirose ictérigène paraissant ainsi confirmé, on ne pratique pas l'inoculation des urines au cobaye et on se borne à prélever le 17e jour du sérum pour sérodiagnostic de Martin et Pettit. Cette recherche, pratiquée dans le laboratoire du professeur Pettit à l'Institut Pasteur, se montrera négative.

Après quelques jours l'ictère s'atténue rapidement et disparaît, l'évolution se montre bénigne. A signaler le 19e jour d'hospitalisation (23e jour de maladie), un accident sur la courbe thermique (37°7) qui traduit la rechute caractéristique. Le 15 décembre le malade qui a présenté depuis sa guérison clinique une notable chute de cheveux, quitte l'hôpital pour achever sa convalescence ayant récupéré 7 kg. sur son poids à l'entrée.

Observation II. — Mic... Serge, âgé de 20 ans, entré à l'hôpital le 12 novembre 1938 pour ictère. La maladie a débuté le dimanche 6 novembre en pleine santé par une ascension thermique à 40° avec céphalée vive et douleurs abdominales diffuses qui ont disparu en 24 heures. La température se maintient les jours suivants entre 38° et 39°5. Le 3e jour apparaît une amygdalite discrète accompagnée de courbature au niveau des masses sacro-lombaires et des muscles des cuisses. Le 10 novembre, 5e jour de la maladie, la température est à 37° mais l'apparition d'un ictère entraîne l'admission à l'hôpital.

A l'entrée on constate un ictère franc, avec selles non décolorées, urines foncées ne contenant ni glucose ni albumine, mais de fortes quantités de pigments et de sels biliaires. La langue est saburrale, les vaisseaux conjonctivaux injectés sont très apparents, les douleurs musculaires des lombes et des cuisses ont disparu. Il existe un érythème diffus ; on ne note pas d'herpès. L'examen montre un abdomen souple et indolore, un foie normal ; la rate n'est pas perçue ; il n'existe aucune modification à l'examen du cœur et des poumons ; le système nerveux est indemne :

on ne constate en particulier aucun signe de la série méningée. La température est à 36°8, le pouls est à 70.

Les jours suivants l'ictère fonce et prend une teinte orangée « grenade mûre », les selles restent colorées. Le 14 novembre l'examen du culot urinaire (urines prélevées aseptiquement dans la vessie), montre la présence de spirochètes ayant la morphologie du *Leptospira i. h.* (Fontana-Tribondeau). Cette spirochéturie est encore constatée les 17 et 18 novembre. Le 17 novembre, inoculation au cobaye du culot de centrifugation urinaire. Le 21, alors que l'ictère est en pleine décroissance, la rechute fébrile s'inscrit sous forme d'un clocher à 37°8 ; puis l'évolution se fait rapidement vers la guérison. Notons cependant que ce malade se plaint encore pendant plusieurs jours d'asthénie persistante sans que l'examen neurologique montre de symptômes objectifs et qu'il présente comme le malade de l'observation I une chute de cheveux prononcée.

Les examens sanguins ont montré la même évolution de l'azotémie et de la cholestérolémie que dans l'observation précédente.

Le 15 décembre, le malade part en convalescence, la reprise pondérale est de 5 kg.

Le cobaye, inoculé le 17 novembre, est mort le 23 décembre et l'autopsie n'a montré ni ictère, ni lésions hémorragiques, ni spirochètes sur les frottis hépatiques. Enfin, le sérodiagnostic de Martin et Petit sur du sérum prélevé le 28 novembre s'est montré négatif.

Dates	Jour de maladie	Jour d'ictère	Urée o/oo	Cholest. o/oo	Observations
Observation I					
7 nov. 1938	9e	5e	0,30	1,60	Sérodiagnostic le 15 = 0 au 17e jour de maladie.
14 —	16e	12e	0,30	2,20	
21 —	23e	19e	0,32	2,56	
28 —	30e	26e	0,40	2,30	
5 déc 1938	37e	33e	0,30	2,10	
12 —	44e	40e	0,26	1,90	
Observation II					
12 nov. 1938	6e	3e	0,40	1,40	Inoculation le 17 = 0 : 8e jour d'ictère, 11e jour de maladie, sérodiag. négatif au 22e jour de maladie.
28 —	22e	12e	0,30	2,10	
6 déc. 1938	30e	20e	0,35	2,30	

Ces deux observations, tout à fait comparables, éveillent, par leur simultanéité d'apparition, la notion d'un lien *épidémiologique* commun. L'enquête montrait qu'il n'en était rien : nos deux malades habitaient des casernements différents et éloignés l'un de l'autres ; Mic... habitait la ville depuis un an, Sor... venait d'y arriver, venant d'une localité de Seine-et-Marne. Aucun d'eux n'avait eu de contact apparent avec des murins, contact professionnel ou accidentel ; aucun d'eux n'avait pris de bain de rivière ou de pis-

cine. Ils avaient donc contracté leur affection indépendamment l'un de l'autre.

Les deux syndromes *cliniques* étaient identiques : début brusque par un ensemble infectieux avec céphalée, myalgies, injection conjonctivale; ictère brutal au 5e jour de la maladie; il manquait dans les deux cas la participation rénale et la participation méningée. Le syndrome d'atteinte hépatique était cependant assez intense et assez caractéristique pour justifier le soupçon de spirochétose ictérohémorragique.

Les examens *bactériologiques* semblaient confirmer cette présomption par la constatation au 9e et au 10e jour d'une spirochéturie montrant des leptospires ayant la morphologie du leptospire d'Inada et Ido. Cette identité d'aspect pouvait n'être qu'une apparence : restait à la confirmer par des examens plus précis.

Les examens *biologiques* montrèrent dans l'observation II l'absence de pouvoir pathogène spécifique pour le cobaye et dans les deux observations un sérodiagnostic de Martin et Pettit négatif, au 17e jour pour l'une, au 22e jour pour l'autre. Si l'absence de pouvoir pathogène pouvait être expliquée par une « phase négative » dans l'élimination des spirochètes dans l'urine, la négativité des sérodiagnostics, par contre, infirmait de manière absolue le diagnostic de leptospirose d'Inada et Ido.

Les deux observations précédentes ne concernaient donc que des ictères infectieux fébriles avec spirochéturie : et non pas des leptospiroses, dont elles avaient cependant revêtu l'apparence clinique. Elles doivent être rapprochées des cas observés par Quérangal des Essarts et qui ont fait l'objet d'une communication à la Société de Pathologie Exotique, dans la séance du 12 octobre 1938.

Comment interpréter l'apparente contradiction de la clinique et du laboratoire?

1° S'agit-il d'ictère infectieux avec spirochéturie « de sortie »? De tels faits ont déjà été signalés dès 1927 par N. Fiessinger et Leroy : mais il s'agissait d'affections n'ayant aucun des caractères cliniques de la leptospirose et pour lesquelles les constatations de laboratoire étaient pour ainsi dire inattendues.

2° S'agit-il de leptospiroses humaines dues à une espèce pathogène distincte du *Leptospira ictero-hemorragiæ*? Il semble impossible de rattacher ces deux observations aux leptospiroses humaines observées dans des régions lointaines (Japon, Indes néerlandaises, Russie), leptospiroses ne comportant d'ailleurs pas d'ictère dans leur expression clinique : nos malades n'avaient jamais quitté la France. Par contre, il existe en Europe des leptospiroses animales connues depuis peu et dont les plus étudiées sont les leptospiroses canines.

Un certain nombre de faits paraissent prouver qu'une partie au moins des leptospiroses canines est due à *Leptospira ictero-hemorragiæ* (Okel, Dalling et Pugh, 1925 ; Kanterowicz, 1935) ; mais Schüffner et Klarenbeek ont isolé en 1931 une souche canine : le *Leptospira canicola*, d'aspect morphologique identique, mais de pouvoir antigénique différent. Cette infection, dont le réservoir de virus est le chien et non plus le rat (Essewald, 1937), peut être transmise à l'homme.

Cette leptospirose humaine d'origine canine se traduirait par une méningite bénigne réalisant un type de leptospirose méningée pure (Roos, Troisier). Seules les épreuves d'agglutination avec le *Leptospira canicola* pourraient l'identifier ; l'inoculation au cobaye est négative ; seule l'inoculation au singe donnerait une méningite lymphocytaire rappelant la maladie humaine (Troisier et Mollaret).

En admettant que le *Leptospira canicola* fût en cause chez nos malades — ce que seule l'agglutination aurait pu préciser et elle n'a pas été demandée — il faudrait accepter que cette souche eût dépouillé son tropisme méningé préférentiel et même exclusif pour un tropisme hépatique formel qui lui est classiquement inhabituel.

3° S'agit-il de leptospiroses dues à des spirochètes aquicoles, du type des souches Erlangen, Tokio, Vinzent, etc. ? Leur pouvoir pathogène expérimental est encore discuté ; affirmé par Uhlenhuth et Mlle Zuelzer, par Bessemans et Thiry, il est nié par la plupart des auteurs. Mais ils n'en ont pas moins été isolés au cours de syndromes méningés et d'ictères et présentent des réactions d'agglutination atypiques (sérodiagnostic du type 3, Mollaret) ; absence de phénomène de zone ; agglutination en amas peu serrés et dissociables (Mollaret et Mme Kolochine-Erber). Ces réactions n'ayant pas été demandées ne peuvent apporter de réponse précise au rôle possible de spirochètes aquicoles dans les deux observations précédentes.

Malgré cette absence de précision, nos deux cas, s'ajoutant à ceux de Quérangal des Essarts, gardent un intérêt : celui de montrer qu'il existe des syndromes rappelant cliniquement la maladie de Mathieu-Weil et qui, malgré la constatation d'une spirochéturie, ne sont pas des leptospiroses d'Inada et Ido.

LEISHMANIOSE VISCÉRALE GÉNÉRALISÉE OBSERVÉE CHEZ UN ÉCUREUIL (*XERUS GETULUS* L.) AU MAROC

Par G. BLANC

L'existence de la leishmaniose viscérale chez les animaux n'a été constatée, de façon indiscutable, en dehors du chien, que sur le chat (1).

Richardson signale cependant qu'il a trouvé, à l'autopsie d'un cheval, dans l'Uganda, sur frottis de rate, de nombreuses leishmanies (2). Wenyon qui a vu les préparations, reconnaît qu'elles ont l'aspect de celles qu'on obtient par frottis de rate dans le kala-azar (3). Napier (4) n'écarte cependant pas l'hypothèse qu'il peut s'agir de formes dégénérées de trypanosome. Ajoutons qu'il n'y a pas lieu d'assimiler à la leishmaniose viscérale les infections à *Leishmania* que Laveran et Franchini ont signalées chez le loir (*Myoxus glis* (5) et où l'on rencontre, à côté de forme *Leishmania*, des formes flagellées *Leptomonas*.

Au hasard d'une autopsie, nous avons trouvé un cas de leishmaniose viscérale généralisée chez un écureuil marocain, le *Xerus getulus* (*). Cette découverte pose des problèmes qui, pour le moment, ne sont pas résolus. Il nous paraît utile de présenter les faits en soulevant les hypothèses qu'ils provoquent.

Observation. — Des écureuils de Gétulie (*X. getulus*) avaient été mis en cages le 17 février 1939, en vue d'expériences ultérieures ; ils étaient examinés régulièrement chaque semaine. Le 25 mai, en faisant la revue hebdomadaire, on trouve, dans une cage qui contenait trois *Xerus*, le

(*) L'écureuil de Gétulie, *Xerus* (*Atlantoxerus*) *getulus* L., vulgairement appelé rat palmiste, bien qu'il ne soit nullement un hôte particulier des palmeraies, se rencontre, au Maroc, dans toute la zone des arganiers, mais il la déborde très largement, puisqu'on le trouve également dans le haut et le moyen Atlas.

Nous avons reçu de la région d'Agadir, du Capitaine Olloix des Affaires Indigènes, des écureuils plus grands que le *Xerus getulus*, le poil est beaucoup plus dur, la teinte plus claire, jaune roux ; il s'agit d'un type nettement distinct du premier. Peut-être se rattache-t-il à l'espèce *Xerus* (*Euxerus*) *erythropus* très abondante dans le Nord de l'Afrique occidentale et dont une variété le *Xerus erythropus agadius* Thomas remonte au Nord de l'Aïr.

Ces *Xerus* sp. ? sont plus sauvages que les premiers. En captivité, ils se montrent beaucoup plus fouisseurs et restent cachés pendant le jour, dans leur terrier.

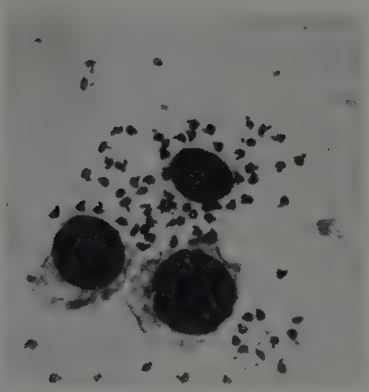

Fig. 1. — Frottis de foie de *Xerus getulus*. Nombreuses leishmanies (Photomicrographie du Docteur Pagès).

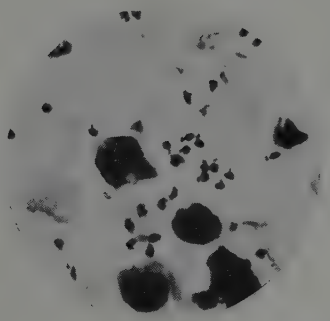

Fig. 2. — Frottis de rate de *Xerus getulus*. Nombreuses leishmanies (Photomicrographie du Docteur Pagès).

Fig. 3. — Box (le premier sur la photo) où sont élevés depuis 1935 les *Xerus getulus*. Au fond autres petits boxes grillagés.

Fig. 1. — Le même box pour *Xerus*; au premier plan box pour lapins, non grillagé.

Fig. 2. — Abris en pierre, dans le box à *Xerus*.
En avant se voient les trous creusés par les écureuils.

cadavre de l'un d'eux ; la mort devant remonter à environ 24 heures. L'animal est très amaigri. A l'ouverture de la paroi abdominale, on trouve une rate énorme barrant la masse viscérale ventrale. Cette rate pèse 4 g., elle est longue de 4 cm. 8 et mesure 1 cm. 7 à sa plus grande largeur. Par comparaison, notons que la rate normale d'un *Xerus getulus* pèse en moyenne 0 g. 90, est longue de 3 cm. et large de 0 cm. 6. La splénomégalie est donc très apparente. Les ganglions inguinaux sont un peu gros, environ de la dimension d'un grain de riz. Les ganglions sous-lombaires sont sphériques, de la taille d'un grain de poivre. Le foie paraît gros mais aucune mesure comparative n'a été faite avec un foie normal. Le péritoine est sain, nulle lésion apparente des viscères en dehors de l'augmentation de volume de la rate.

Depuis le 17 février, soit depuis 97 jours que ce rongeur est en cage, on n'a observé aucune épizootie, soit dans les cages, soit dans le box d'où proviennent ces animaux. La mort soudaine de l'animal et les constatations faites à l'autopsie nous font écarter l'hypothèse d'une infection microbienne et soupçonner une infection à Protozoaires, tout particulièrement la toxoplasmose.

Des frottis de rate, foie, ganglions inguinaux, poumons, colorés au Giemsa, montrent qu'il ne s'agit pas de toxoplasmose mais de leishmaniose.

Le foie et la rate apparaissent bourrés de leishmanies (Pl. I, fig. 1 et 2) ; sur coupe de rate, malgré la mauvaise conservation des tissus, on voit, particulièrement dans les sinus, de nombreuses cellules réticulo-endothéliales remplies de parasites. Dans les ganglions, les altérations cellulaires sont plus marquées que dans la rate et le foie, mais il est possible d'observer de très nombreux parasites dont quelques-uns tout-à-fait typiques. Dans les frottis de poumons, les leishmanies sont également très abondantes.

Le diagnostic de leishmaniose viscérale généralisée peut être posé.

Discussion des faits.

Le mauvais état de conservation du cadavre n'a pas permis de faire des passages à d'autres animaux. Nous ne pouvons donc avoir de preuve formelle que cette leishmaniose viscérale n'est autre que celle que l'on observe, en Afrique du Nord, chez le chien ou chez l'homme, malgré que cette hypothèse apparaisse comme la plus vraisemblable. S'il en est ainsi, l'examen microscopique des tissus permet d'affirmer que, même si l'écureuil de Gétulie est aussi sensible au kala-azar que le spermophile, l'affection remonte à plusieurs mois.

Etant donné qu'il s'agit d'une infection naturelle et non expérimentale, donc d'évolution plus lente, on est en droit d'en faire remonter le début à au moins 5 mois et probablement à 7 ou 8 mois ou davantage, l'animal pouvant s'être infecté au mois de septembre ou au mois d'octobre de l'année précédente.

Si nous admettons l'hypothèse que l'infection remonte à plus de

trois mois, il s'en suit qu'elle n'a pas été contractée dans les cages où étaient enfermés les écureuils de Gétulie.

Avant d'être mis en cage, ces rongeurs se trouvaient placés dans un box spécialement aménagé pour eux et situé dans un autre corps du bâtiment. Cette construction est destinée à recevoir soit des animaux de laboratoire tels que lapins et cobayes et accessoirement de jeunes chiens, soit des rongeurs sauvages tels que mérions et écureuils, des insectivores tels que des hérissons, des carnivores tels que des furets, etc...

Le box destiné aux écureuils de Gétulie se trouve placé entre ceux qui sont réservés aux lapins, et ceux qui hébergent ou ont hébergé les divers animaux que nous avons cités. C'est une pièce de 4 m. de profondeur et de 3 m. 80 de large. Elle est haute de 2 m. et couverte en partie d'une dalle de ciment, sur une profondeur de 2 m. 70, le reste de la couverture étant fait d'un simple grillage qui s'étend sur toute la largeur et sur une profondeur de 1 m. 30.

Sur les côtés pleins, sont ménagés des panneaux grillagés de 1 m. 30 de long sur une hauteur de 50 cm. Enfin, sur la face d'entrée, il y a également un panneau grillagé de 50 cm. de hauteur qui s'étend sur toute la longueur (Pl. I, fig. 3, Pl. II, fig. 1).

Une couche de terre, épaisse de 0 m. 35, couvre le sol. Dans les angles, des abris de grosses pierres ont été aménagés. Les écureuils gîtent dans ces pierres et creusent aussi des terriers (fig. 2).

Le box est protégé par des grillages contre les rongeurs (rats) ou petits carnivores, mais il est largement perméable aux insectes ou acariens, agents possibles de transmission du kala-azar.

Ce box a été construit au début de l'année 1935, pour recevoir des écureuils provenant de la région d'Imin-Tanout, localité située au Sud de Chichaoua, à peu près au centre d'une ligne joignant directement Marrakech à Agadir.

Depuis cette époque, aucun nouveau *Xerus* n'a été introduit. Ceux qui se trouvaient encore dans ce box et que nous avons retirés au mois de février, y sont nés. C'est donc là que s'est faite la contamination.

La question se pose de savoir comment elle a pu se faire et d'où vient le virus. Deux hypothèses sont à envisager : ou bien le virus a été apporté avec les premiers écureuils, c'est une infection naturelle chez le rongeur et qui s'est maintenue d'animal à animal jusqu'à celui que le hasard nous a fait reconnaître infecté. Aucune constatation préalable n'apporte d'argument en faveur de cette hypothèse. Nous n'avons jamais constaté, au cours de nombreuses autopsies, aucune lésion pouvant, après coup, faire penser à l'existence d'une leishmaniose viscérale chez l'animal sauvage ; infection

qui, de plus, aurait évolué inaperçue depuis près de 5 ans qu'elle existerait dans notre élevage. Par ailleurs, le kala-azar, jusqu'à présent, n'est connu que comme affection strictement domestique.

La seconde hypothèse, que l'on peut faire, est que l'infection est apparue accidentellement chez un écureuil en captivité, transmise par un ectoparasite qui s'est infecté lui-même sur un homme ou plus probablement sur un chien.

De tels cas d'infection d'écurie ne sont pas exceptionnels, c'est ainsi qu'avec Chatton nous avons pu montrer que la toxoplasmose du Gondi, en Tunisie, apparaît chez les animaux en captivité (6) et ne se rencontre pas dans la nature. Nous n'avions trouvé aucun animal infecté sur 400 examinés au lieu d'origine, alors que nous avions constaté que, sur 71 animaux examinés à l'Institut Pasteur de Tunis, 33 s'étaient trouvés infectés au-delà du trentième jour de captivité.

La constatation que nous avons faite plus tard, dans le chenil de l'Institut, d'un chien infecté de toxoplasmose, nous a permis de considérer que la toxoplasmose du gondi était une maladie domestique, inexistante chez l'animal sauvage et contractée par lui en captivité et vraisemblablement transmise par une tique (*Rhipicephalus*).

Cette seconde hypothèse, d'une infection contractée sur place, est plus séduisante que la première mais, pas plus qu'elle, ne peut être étayée par des faits.

Le kala-azar est une maladie rare au Maroc. Si on excepte un petit foyer saharien, dans la région d'Akka et de Tindouf (*), on peut même dire qu'elle est exceptionnelle. Rappelons les cas :

A part celui de Tanger de Remlinger (7), on note le cas de

(*) Dans l'extrême sud marocain, dans la région d'Akka et de Tatta, il existe, semble t-il, un foyer assez important de leishmaniose viscérale. Déjà, en 1935, Gaud (*Office International d'Hygiène*, XXVII, 534, 1935) signale 3 cas vus par Delpy, chez des militaires provenant de la région d'Ighern ; depuis, nous avons eu connaissance de 5 autres cas, tous survenus chez des militaires et provenant de la même région. Deux fois l'examen microscopique a pu être fait et a permis de déceler les leishmanies. Un sixième cas, militaire également, à examen microscopique positif, a été observé chez un légionnaire venant d'Erfoud. Ces observations qui, à notre connaissance, n'ont pas été publiées ont été faites de 1936 à 1938 ; elles nous ont été communiquées par le Médecin-Général Vanlande, Directeur, et le Médecin-Colonel Laurens, Directeur-Adjoint du Service de Santé des Troupes du Maroc, que nous tenons à remercier de leur obligeance.

A Tindouf, 2 cas ont été observés chez des enfants, par le Médecin-Lieutenant Pelot, en 1936 ; dans un de ces deux cas la présence de leishmanies a été constatée. Nous remercions le docteur Ramery qui a bien voulu nous donner ces deux observations. Elles sont citées par Foley (*Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, XVII, 14, 1939).

Klippel et Monnier-Vinard, provenant de Meknès (8); celui de Fabian Luengo Garcia, du Maroc espagnol (9); celui que nous avons observé à Azrou avec le docteur M. Pietri (10) et le cas de Flye Sainte-Marie, de la région de Fès (11). Tous ces cas ont été authentifiés par la découverte de leishmanies sur frottis de fragments de rate obtenus par ponction. On peut citer encore un cas observé, à Casablanca, par Grisez et Noury en 1935 sur une femme qui vit au Maroc depuis une douzaine d'années avec séjours à Meknès, Khémisset, Mogador, Ben Ahmed. Les signes cliniques, la formule sanguine, la séro-réaction positive de formolgélification et le succès thérapeutique aux sels d'antimoine laissent peu de place au doute, bien que l'examen du produit de la ponction de la rate ait été négatif.

Chez les chiens, les observations sont aussi rares. Deux cas ont été vus à Casablanca. Dans l'un signalé par Jeaume (12), il s'agit d'un fox, né et ayant vécu au Maroc et qui a contracté sur place son infection. Dans l'autre cas, il s'agit d'un bull français, observé par Larrouy, Zottner, Martin et nous-même. L'animal qui, avant de venir au Maroc où il se trouvait depuis un an, à la date de sa mort, avait séjourné dans un chenil à Marseille, pendant un an, s'y était très probablement infecté.

Flye Sainte-Marie, d'autre part, a trouvé 2 chiens atteints de kala-azar, dans le douar d'où provenait l'enfant dont il a donné l'observation. L'un de ces chiens était celui de la famille même du petit malade (11).

A notre Institut, nous n'avons jamais observé de kala-azar sur les chiens du chenil. Ce qui, bien entendu, n'exclut pas la possibilité de cas sans symptomatologie frappante.

Un chien, inoculé à Alger, a été introduit le 20 avril 1937; il a été sacrifié le 5 mai de la même année. Un autre chien également atteint de kala-azar est ramené d'Alger le 30 novembre 1937; il meurt quelques semaines plus tard, le 6 janvier 1938.

Faut-il rechercher la source de virus chez ces animaux? peut-être, mais alors se pose, tout particulièrement, la question du mode de transmission.

Si le chien n° 1 ou même le chien n° 2 ont apporté le virus qui a contaminé notre écureuil, il paraît difficile d'admettre que la transmission ait pu se faire directement par l'intermédiaire de phlébotomes; il faut supposer qu'il y a eu, du chien au rongeur, le relai d'un autre chien dont l'infection nous aurait échappé. Les phlébotomes paraissent rares à Casablanca. Nous n'avons jamais observé dans les locaux de l'Institut Pasteur, maisons d'habitation, écuries ou latrines, de phlébotomes de l'espèce *Ph. papatasi*. Deux fois,

cependant, nous avons été piqué le soir par des phlébotomes pouvant appartenir au groupe *Ph. perniciosus*.

Les tiques (*Rhipicephalus*) pourraient être incriminées, car le premier chien était fortement parasité et nous ne pouvons affirmer que le second, au moment de son introduction dans notre chenil, en était complètement dépourvu.

Au demeurant, aucune hypothèse sur l'origine du virus et sur le mode de transmission ne peut entraîner la conviction.

Conclusions

Nous ne retiendrons, en conclusion, que les données suivantes :

1° Un cas de leishmaniose viscérale généralisée a été observé à Casablanca, chez un rongeur en captivité, appartenant à l'espèce *Xerus getulus*.

2° Il n'est pas prouvé que cette infection soit due à l'espèce de *Leishmania* qui provoque le kala-azar de l'homme et du chien en Afrique du Nord, mais l'hypothèse n'en peut être écartée.

Si elle est exacte, nous devons considérer l'écureuil de Gétulie (*Xerus getulus*) comme un des rongeurs susceptibles d'être utilisés pour l'étude expérimentale du kala-azar.

Institut Pasteur du Maroc.

Bibliographie

(1) Sergent (Ed. et Et.), Lombard, Quilichini. — *Bull. Soc. Path. Exot.*, V, 93, 1912.
Gimeno Ondovilla (A.). — *Trabajos*, II, 26, Madrid, 1933.
(2) Richardson (U. F.). — *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. a. Hyg.*, XIX, 281, 1925.
(3) Wenyon (C. M.). — *Protozoology*, I, 399, 1926.
(4) Napier (L. E.). — *Handb. Path. Mikroorg.*, VII, 1520, 1930.
(5) Laveran (A.) et Franchini (G.). — *Bull. Soc. Path. Exot.*, XIV, 278, 1921.
(6) Chatton (E.) et Blanc (G.). — *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, X, 9, 1917.
(7) Remlinger. — *Arch. Institut Pasteur Afrique du Nord*, 1, 240, 1921.
(8) Klippel et Monnier-Vinard. — *Soc. Méd. Hôpit. Paris*, 20 janvier 1922.
(9) Fabian Luengo Garcia. — *Medicina de los Paises Calidos*, 570, 1929.
(10) Blanc (G.) et Pietri (A.). — *Maroc-Médical*, f. 146, 15 août 1934.
(11) Flye Sainte-Marie. — *Bull. Soc. Path. Exot.*, XXVIII, 183, 1935.
(12) Jeaume. — *Bull. Soc. Path. Exot.*, XXIV, 225, 1931.

RECHERCHES SUR LES MODALITÉS DE L'IMPALUDATION EN MILIEU MOÏ ET EN MILIEU ANNAMITE

Par E. FARINAUD et P. PROST

On ne peut qu'être frappé du contraste qui existe, sur les Hauts-Plateaux de l'Indochine méridionale, entre l'allure souvent athlétique des populations autochtones, les « moïs », et l'aspect misérable des annamites d'importation plus ou moins récente. Issus d'une race travailleuse et féconde, il semble que ces derniers soient frappés de stérilité dès qu'ils abordent la région montagneuse ou, selon leur légende, « le pays de l'eau mauvaise ».

Ce comportement différent des deux races tient, on le sait, à l'immunité beaucoup plus complète que les moïs possèdent contre le paludisme. Cependant pour manifeste qu'elle soit chez l'adulte moï, cette résistance à l'infection paraît beaucoup moins évidente dans l'enfance et les données démographiques dont on dispose actuellement montrent que beaucoup de ces peuplades, si robustes en apparence, sont frappées de stagnation, ou même en voie de disparition.

Ces oppositions que l'on constate ainsi entre les deux races, et chez les moïs eux-mêmes d'un âge à l'autre, nous ont incités à étudier comparativement dans cette région les modalités de l'impaludation et de la prémunition.

I. — Les caractéristiques du paludisme chez les moïs.

Notre enquête s'est étendue à l'ensemble des plateaux du sud indochinois, Kontum, Darlac et Haut-Chlong mais c'est surtout dans cette dernière région que nos observations ont pu être les plus complètes et les plus détaillées.

Dans chaque série d'examens les résultats ont été réunis par « groupes d'âges », discrimination qui permet de mieux suivre le développement de l'impaludation.

Sur 837 enfants Banhara ou Rhadés du Kontum et du Darlac, les index splénique et plasmodique ont respectivement une valeur moyenne de 78,25 o/o et de 41,88 o/o. Leurs variations par groupes d'âges sont les suivantes :

	0-XII mois	1 à 2 ans	3 à 5 ans	6 à 10 ans	11 à 15 ans
Index splénique. . . .	66,66 o/o	91,93 o/o	86,88 o/o	73,98 o/o	73,17 o/o
Index plasmodique. . .	86,66 o/o	82,14 o/o	52,42 o/o	35,84 o/o	30,16 o/o

C'est donc très rapidement, entre 1 et 2 ans, que l'index splénique passe par sa valeur la plus élevée. Le taux maximum des infections sanguines est encore plus précoce et se situe dans les premiers mois de l'enfance. Les index endémiques s'abaissent ensuite progressivement : cette diminution est nettement plus accentuée en ce qui concerne l'index plasmodique.

Nos recherches chez les Phuongs du Haut-Chlong ont pu être beaucoup plus précises, surtout en ce qui concerne la détermination de l'âge effectif des enfants examinés, notion à laquelle les moïs n'attachent eux-mêmes qu'une importance toute relative (*). 1.000 enfants et 1.219 adultes, soit approximativement le 1/4 et le 1/5 de la population, ont ainsi pu être examinés.

Dans cette région particulièrement impaludée, les taux d'endémicité sont plus élevés et plus homogènes que précédemment : ils atteignent 85,41 o/o pour l'index splénique et 81,18 o/o pour l'index plasmodique. Leur répartition par groupes d'âges est également significative.

	0-VI mois	VI-XII mois	1 à 2 ans	2 à 5 ans	5 à 10 ans	10 à 15 ans	Adultes
Index splénique. .	73,33 o/o	93,22 o/o	98,14 o/o	96,61 o/o	84,05 o/o	63,19 o/o	18,5 o/o
Index plasmodique.	71,66 o/o	96,61 /o	96,29 o/o	92,85 o/o	75,94 o/o	60,12 o/o	26,66 o/o
Index gamétique.	20 o/o	40,6 o/o	41,6 o/o	33,5 o/o	18,8 o/o	15,9 o/o	5,3 o/o

(*) Nous avons en pratique utilisé les recoupements suivants :

	Age approximatif
L'enfant avait-il ses premières dents ?	6 mois
Savait-il se tenir sur son séant ?	6-12 mois
Savait-il marcher ?	12-15 mois
Lui avait-on donné un nom ?	1 à 2 ans
Avait-il perdu ses dents de lait ?	6 ans
Portait-il déjà le langousti ou la jupe ?	7 à 8 ans
Lui avait-on déjà limé les dents ?	13-15 ans

Le fait essentiel est la rapidité extrême des contaminations palustres dans le jeune âge. 96 o/o des enfants sont parasités dès la fin de la première année. De 1 à 2 ans la proportion des porteurs d'hématozoaires reste à peu près la même mais l'index splénique passe de 93 à 98 o/o. C'est dire que la totalité de la population infantile est atteinte par l'endémie palustre. A partir de 2 ans les différents index endémiques conservent une évolution parallèle et s'abaissent régulièrement jusqu'à l'âge adulte. Chez l'enfant l'index splénique est toujours supérieur à l'index plasmodique : la situation se renverse au début de l'adolescence.

Il faut enfin insister sur l'importance de l'index gamétique. De 6 mois à 2 ans le nombre de porteurs de gamètes atteint des proportions que l'on ne rencontre que dans le paludisme épidémique. Les enfants jeunes représentent ainsi l'élément de beaucoup le plus contagieux du réservoir de virus.

Il est intéressant de signaler d'autre part que cette agressivité du paludisme se manifeste non seulement par l'élévation immédiate en valeur absolue de l'index splénique chez les jeunes enfants mais tout aussi bien par la fréquence initiale de très grosses splénomégalies.

La notation utilisée au cours de ces recherches a été celle de N. Bernard qui, en dehors des rates non percutables (rates 0) ou percutables (rates 1), comporte quatre catégories de rates palpables (rates 2, 3, 4, 5) allant du rebord costal jusqu'au delà de l'ombilic.

On constate ainsi que les rates 5 — celles qui dépassent l'ombilic —, atteignent leur maximum entre VI et XII mois ; les rates 4, entre VI mois et 1 an 1/2 ; les rates 3, vers 2 ans 1/2 ; les rates 2, entre 7 et 12 ans. Chez l'adulte les rates 4 et 5 disparaissent de façon pratiquement complète.

On peut donc dire dans l'ensemble *que, chez les moïs, les splénomégalies sont d'autant plus fréquentes et d'autant plus fortes que l'enfant est plus jeune.*

Pl. falciparum et *Pl. vivax* ont une part à peu près égale dans les infestations massives qui surviennent au cours de six premiers mois. *Pl. vivax* l'emporte ensuite temporairement mais, dès la deuxième année *Pl. falciparum* reprend un rôle prépondérant. De 1 à 5 ans, 45 o/o des infections sanguines constatées lui sont imputables. De 6 à 10 ans, cette proportion s'élève assez brusquement au-dessus de 60 o/o et jusqu'à l'âge adulte les pourcentages relatifs des différents hématozoaires conservent une valeur sensiblement constante.

En pratique la répartition des divers types d'hématozoaires dans une collectivité donnée se montre assez irrégulière. On peut trou-

ver des enfants infectés par les trois types d'hématozoaires — schizontes et gamètes — alors que les infections chez les adultes sont uniquement dues à *Pl. falciparum*. *Pl. vivax* ou *Pl. malariæ* ne se rencontrent qu'exceptionnellement chez les adultes de plus de 40 ans. L'adulte qui meurt de paludisme est toujours victime d'une infection à *Pl. falciparum*.

Tout se passe donc comme si la prémunition contre *Pl. falciparum* était beaucoup plus difficile à acquérir et beaucoup moins solide que celle contre *Pl. vivax* et *Pl. malariæ*. Il semble d'autre part que l'on puisse distinguer une prémunition spécifique propre à chaque type d'hématozoaire et une prémunition en quelque sorte collective. C'est ce que montre l'évolution des pourcentages effectifs de porteurs d'hématozoaires aux différents âges (fig. 1).

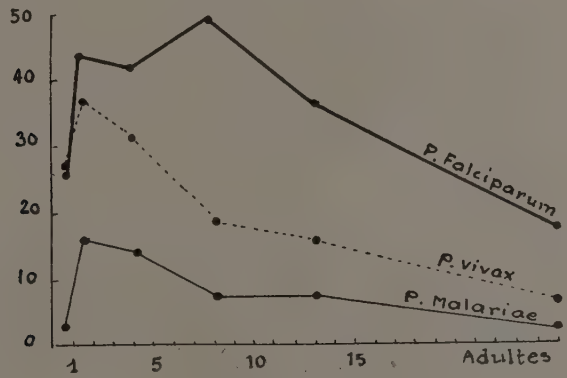

Fig. 1.

Dans un premier temps, jusqu'à 5-10 ans, on voit les pourcentages de *Pl. vivax* et de *Pl. malariæ* s'abaisser rapidement sous l'influence de la prémunition spécifique alors que le nombre de sujets infectés par *Pl. falciparum* se trouve plutôt en augmentation. De 5-10 ans jusqu'à l'âge adulte la réduction est au contraire parallèle et porte sur les trois espèces d'hématozoaires. C'est le stade de prémunition globale.

De plus, à l'inverse de l'enfant qui présente des infections sanguines toujours extrêmement intenses, l'adulte prémuni, porteur tolérant, est toujours un « pauciparasité ».

Cette impaludation si rapide de la première enfance s'accompagne de taux de mortalité extrêmement élevés. 12,9 0/0 des nouveau-nés meurent au cours du premier mois le plus souvent dans

les huit premiers jours. Globalement 30 o/o des enfants disparaissent avant l'âge de 1 an.

Après 2 ans, un certain état d'équilibre semble déjà s'établir, mais cet équilibre reste très précaire et des maladies bénignes en elles-mêmes suffisent à le faire disparaître.

De 5 ans à l'âge adulte les taux de mortalité diminuent en même temps que les taux d'infection. Ce n'est toutefois qu'à partir de l'âge de 8 à 10 ans que le jeune moï paraît prendre le dessus sur son infection.

On retrouve au Kontum et au Darlac des données absolument superposables en ce qui concerne le retentissement de l'endémie palustre sur la mortalité infantile.

II. — Les caractéristiques du paludisme chez les annamites.

L'essentiel de notre enquête a porté sur les annamites de Kontum et de Darlac, c'est-à-dire sur des sujets soumis apparemment aux mêmes conditions épidémiologiques que les moïs précédemment étudiés. Sur une série de 712 enfants et de 344 adultes, la répartition des index par « groupes d'âges » donne les chiffres suivants :

Répartition par groupes d'âges.

	Index moyens (enfants)	1-2 ans	3-5 ans	6-10 ans	11-15 ans	Adultes
Index splénique . .	57,02 o/o	31,37 o/o	53,77 o/o	62,84 o/o	59 o/o	61,04 o/o
Index plasmodique.	38,07 o/o	41,66 o/o	37,81 o/o	35,76 o/o	41,40 o/o	18,60 o/o

La formule paraît donc assez différente de celle enregistrée chez les moïs. On retrouve la précession habituelle de l'index plasmodique sur l'index splénique mais ce dernier augmente nettement avec l'âge et conserve de 6 ans jusqu'à l'âge adulte une valeur sensiblement constante. On n'observe pas, d'autre part, l'inversion des index qui se produit chez les moïs au cours de l'adolescence. L'index splénique chez les adultes l'emporte de beaucoup sur l'index plasmodique.

Ce mode d'impaludation paraît assez spécial à la race annamite. On retrouve en effet les mêmes caractéristiques en dehors des pays moïs, comme le montre le dépouillement par « groupes d'âges » des résultats obtenus au cours d'enquêtes antérieurement effectuées dans la Moyenne et la Haute Région du Tonkin (1931-32).

Répartition par groupes d'âges.

	Index moyens	1-2 ans	3-5 ans	6-10 ans	11-15 ans
Moyenne Région (1.098 enfants).					
Index splénique. .	35,36 o/o	22,22 o/o	29,74 o,o	36,30 o/o	37,92 o/o
Haute Région (433 enfants).					
Index splénique. .	82,67 o/o	62,50 o/o	77,64 o/o	82,81 o/o	92 o/o
Index plasmodique.	56,22 o/o	35,71 o/o	46,60 o,o	53,68 o/o	60,51 o/o

Quels que soient la zone d'habitat et les taux moyens d'infection, l'index splénique s'accroît donc régulièrement pendant toute la durée de l'enfance et conserve chez l'adulte une valeur toujours élevée. L'index plasmodique peut soit augmenter, c'est le cas du Haut-Tonkin, soit rester à peu près stationnaire comme chez les enfants annamites du Kontum et du Darlac. Ces index, à l'encontre de ce que l'on observe chez les moïs, restent donc relativement indépendants.

La progression ascendante de l'index splénique en fonction de l'âge avec persistance chez l'adulte d'un taux important de porteurs de grosses rates paraît caractéristique de l'impaludation en milieu annamite.

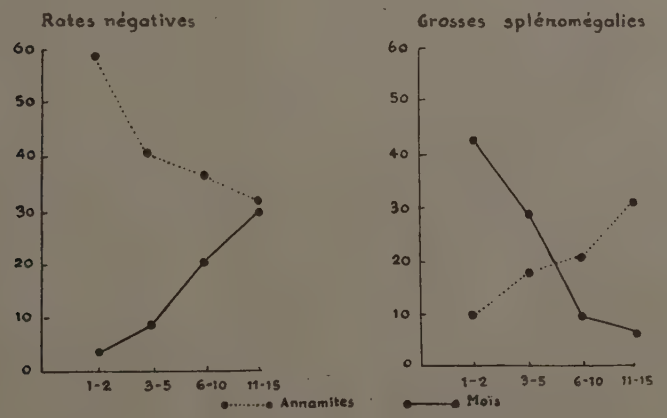

Fig. 2.

On constate la même opposition dans la répartition par âges et par race des diverses splénomégalies (fig. 2).

Parties de pôles opposés, les courbes de fréquence des rates négatives se rapprochent progressivement pour aboutir de 11 à 15 ans à un pourcentage à peu près égal : 30 o/o dans les deux races.

Les courbes des grosses splénomégalies, celles des rates 4 et 5 qui atteignent ou dépassent l'ombilic, présentent également une évolution absolument inverse et se croisent vers l'âge de 7 à 8 ans.

Les variations de la rate moyenne ou mieux de l'index splénométrique mettent bien en évidence les caractéristiques propres de chacun de ces types d'impaludation. C'est ce que montre le graphique ci-contre (fig. 3) établi d'après l'ensemble des examens effectués chez les moïs et chez les annamites du Kontum-Darlac et du Haut-Tonkin.

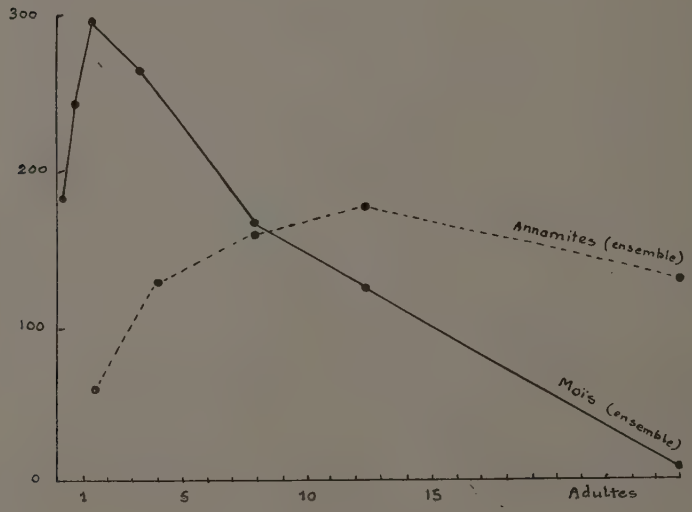

Fig. 3. — Index splénométrique.

On retrouve chez les premiers l'impaludation massive et immédiate qui a déjà été signalée. Moins intense au début chez l'annamite, l'infection s'étale et se prolonge jusqu'à l'âge adulte. A 8 ans, les taux d'infection sont à peu près égaux dans les deux cas mais à partir de cet âge, la crise passée, le moï acquiert très rapidement son immunité alors que l'imprégnation palustre ne fait qu'augmenter chez l'annamite et les courbes splénomégaliques se montrent à nouveau divergentes. L'annamite ne parvient pas avec l'âge

adulte à la guérison anatomique de son affection, c'est-à-dire à la disparition des splénomégalies. Il reste ainsi un malade alors que le moï se transforme en « porteur tolérant » ou « inapparent ».

L'imprégnation palustre aboutit ainsi à des résultats nettement différents et chaque race possède en apparence un type d'impaludation qui lui est propre. On peut dire schématiquement que la prémunition contre le paludisme peut, selon le cas ou plus vraisemblablement selon les conditions épidémiologiques considérées, s'obtenir « avec ou sans rate », cette dernière étant de beaucoup la plus complète.

SYNDROMES D'ŒDÈMES PAR CARENCE ALIMENTAIRE DANS LE CERCLE DE ZAGORA (MAROC)

Par E. POUHIN

Caractères épidémiologiques généraux.

Pendant la durée d'un séjour de plus de deux ans dans le Cercle de Zagora, de novembre 1936 à février 1939, j'ai eu l'occasion d'observer les caractères cliniques de syndromes d'œdèmes dont l'origine doit être rattachée aux anomalies de la ration alimentaire des indigènes de ce secteur.

Dès mon arrivée, je constatais que des sujets paludéens faisaient, au décours de crises palustres longues, traitées tardivement ou même non traitées, des œdèmes sans albuminurie ni azotémie, le sujet n'étant pas cachectique et guérissant d'ailleurs par un traitement quinique normal. Le fait de la guérison par la thérapeutique anti-palustre faisait penser à ces œdèmes palustres, discrètement décrits dans les traités, survenant chez des paludéens anciens et gravement atteints.

Survint, à partir de mai 1937, une période de disette. La sécheresse persistant depuis plusieurs années et plus accusée pendant l'hiver 1936-1937, privait le pays de ses ressources agricoles. Un nombre important de miséreux exista. Ils présentèrent des œdèmes analogues aux œdèmes des paludéens examinés les mois précédents. Mais une alimentation équilibrée et vitaminée vint facilement guérir leur nouvelle affection.

Il apparut enfin une épidémie de typhus dans le pays (février à juin 1938). Que firent d'assez nombreux convalescents? Des syn-

dromes d'œdèmes sans albuminurie, identiques par leur évolution aux précédents.

Entre temps il était facile de constater l'apparition des mêmes syndromes au cours d'affections traînantes variées, ulcérations cutanées étendues, broncho-pneumonies, brûlures, ...

Certains sujets ont d'ailleurs présenté des récidives de leurs œdèmes, avec guérison complète dans l'intervalle de chaque récidive, chaque poussée ayant une cause révélatrice spéciale (famine, paludisme, typhus, par exemple). Tout se passe comme si, chez des sujets en état de carence inapparente, un excès de la carence provoqué par des conditions physiologiques seules (famine, restrictions alimentaires, variations du déséquilibre normal) ou par un élément toxi-infectieux faisait apparaître les symptômes de la maladie.

Le syndrome d'œdème apparaît-il au cours de la réalimentation des sujets, après la période d'inanition plus ou moins accusée, d'origine physiologique seule ou pathologique ?

Dans certains cas, si la réalimentation n'a pas été équilibrée, la réponse doit être : oui. Ainsi pendant la période de disette, des miséreux mis en prison pour vol et soumis à une réalimentation abondante, mais peu équilibrée (soupe d'orge exclusivement) ont vu des œdèmes apparaître dès leur incarcération et persister jusqu'à l'établissement d'une ration équilibrée. La maladie est révélée par accentuation du déséquilibre, *par hyperalimentation non équilibrée.*

Souvent il n'en était pas ainsi. Le sujet se présentait avec des œdèmes constitués après s'être nourri longtemps au hasard des possibilités. La maladie est révélée par une *hypoalimentation non équilibrée.*

Mais, dans le cas où la maladie survient au décours d'une maladie infectieuse, le malade étant soumis lors de sa réalimentation au même régime qu'il supportait sans manifestations pathologiques antérieurement, c'est bien le facteur infectieux qu'il faut accuser d'être l'élément révélateur puisque lui seul a constitué l'élément nouveau.

Ainsi les conditions d'apparition des syndromes d'œdèmes sont de deux natures :

a) *Facteurs physiologiques alimentaires seuls*, carences et déséquilibre associés, élément nouveau ou aggravé de l'hygiène alimentaire du malade.

b) *Facteurs toxi-infectieux*, causes de révélation des carences inapparentes et du déséquilibre alimentaire normal des sujets.

Toutes leurs variétés sont ainsi en fait rattachées à une même entité, quelles que soient leurs conditions d'apparition.

Caractères cliniques.

1° *Forme carentielle pure.* — Les caractères cliniques en ont été observés pendant l'épidémie de l'année 1937 dans le Draa. Ils évoluent soit avec une allure épidémique à l'occasion d'une famine, soit sous forme sporadique chez les miséreux.

a) *Caractères généraux.* — L'affection est caractérisée essentiellement par des œdèmes, qui souvent n'ont atteint que les membres inférieurs, mais qui ont eu tous les intermédiaires du simple œdème des malléoles à un syndrome d'anasarque. Ces œdèmes, le plus souvent seul symptôme dans les cas frustes, s'accompagnaient, dans les autres cas, d'un syndrome d'asthénie très frappant. Cliniquement la maladie est caractérisée par ces deux syndromes : syndromes d'œdèmes, d'une part ; syndrome d'asthénie, d'autre part.

Les œdèmes étaient parfois transitoires et augmentaient au cours des rechutes. Leur volume augmentait parfois progressivement jusqu'à la mort du sujet. Dans d'autres cas, la mort survenait au cours d'un syndrome d'asthénie intense et prolongé, les œdèmes étant relativement peu marqués. Le pronostic dépend davantage de l'intensité du syndrome d'asthénie que du volume des œdèmes.

b) *Période de début de la maladie.* — Le plus souvent les malades arrivaient avec des œdèmes constitués et déclaraient n'avoir constaté aucun autre symptôme.

Parfois la maladie avait été précédée de douleurs rhumatoïdes des membres inférieurs.

c) *Période d'état. — Signes généraux.* — La température est normale ou nettement au-dessous de la normale. Le pouls est soit régulier et faible, soit rapide. La tachycardie est fréquente mais inconstante. Aucun rythme respiratoire spécial n'a été décelé, en particulier lors du stade terminal.

Syndrome d'œdèmes. — Les œdèmes sont blancs, mous, prenant facilement le godet, non douloureux, modifiés rapidement dans leur situation suivant la situation du sujet. La variation de ces œdèmes ne pouvait être appréciée sans erreur qu'en examinant les sujets nus.

Ils débutaient par les membres inférieurs et la face. Ils étaient susceptibles de s'étendre ensuite à toute la paroi du corps et d'atteindre toutes les séreuses. Parfois une séreuse était électivement atteinte. Ainsi, chez les jeunes garçons, l'hydrocèle était très fréquente, associée ou non à une ascite. Les hydrothorax n'étaient pas rares. Les hydropéricardes se traduisaient exceptionnellement par des signes physiques.

La variation du volume de ces œdèmes est rapide. En trois jours, les sujets modérément œdématiés deviennent difformes. Inversement, au moment de la guérison, c'est en 48 heures que des diminutions très importantes, presque des disparitions, se produisent d'œdèmes volumineux et stationnaires depuis huit ou dix jours. La débâcle urinaire est considérable à ce moment-là : les enfants étaient trouvés le matin baignant dans leurs urines.

Les enfants et les adultes ont présenté les œdèmes les plus volumineux. Les vieillards n'en ont eu qu'exceptionnellement d'importants ; le plus souvent les leurs restaient limités aux membres inférieurs et à la face.

Syndrome d'asthénie. — Il était impressionnant chez les malades graves. Les sujets restaient couchés sans même demander à boire, en pleine conscience mais indifférents à tout ce qui se passait autour d'eux, se laissant baigner dans leurs excréments s'ils n'étaient pas nettoyés. Des sujets sont restés dans un état analogue plus d'un mois, puis ils ont guéri.

Les malades présentant cette asthénie et cette apathie profondes n'étaient pas le plus souvent ceux atteints des œdèmes les plus marqués : ainsi, les vieillards n'ayant eu que des œdèmes de gravité moyenne ont accusé l'asthénie la plus intense. Mais cette forme a existé également chez les adultes et chez les enfants.

Tous les malades présentant de l'asthénie avaient un teint spécial blanchâtre. Ils donnaient l'impression d'avoir perdu leur pigmentation normale. Ce teint faisait penser à des sujets ayant une forte anémie ; c'était une erreur car l'anémie n'est pas un symptôme de la maladie.

La tension artérielle (Vaquez) était toujours basse ; aux environs de 11,7 chez l'adulte — 7,5 chez l'enfant. Les bruits du cœur étaient assourdis, mais les rythmes anormaux, tachycardie mise à part, n'ont pas été remarqués.

Les autres appareils. — Les vomissements étaient exceptionnels ; la diarrhée presque de règle, fréquente et faite de selles décolorées. L'augmentation du nombre des selles était d'un mauvais pronostic.

Aucune manifestation d'ordre neurologique n'a été constatée pendant l'épidémie de 1937. Toutefois, par la suite, ont été constatés deux cas de polynévrites des deux membres inférieurs avec paraplégie flasque et deux cas de polynévrites unilatérales avec prédominance sur les extenseurs, toutes quatre survenues au décours de syndromes d'œdèmes et semblant faire partie du même tableau clinique. Deux d'entre elles traitées précocement par la vitamine B^1 ont complètement guéri.

2° *Formes révélées par un facteur toxi-infectieux.* — Elles évoluent sous formes sporadique ou épidémique suivant le genre du facteur de révélation. Le syndrome d'œdèmes apparaît au cours ou à la convalescence de la maladie à la faveur de laquelle il est apparu et les modalités de l'affection de révélation influent sur l'évolution des œdèmes. Ceux-ci peuvent disparaître avec l'affection qui a favorisé leur existence ou lui survivre et évoluer avec leurs caractères propres seuls. Le traitement de l'affection qui a provoqué l'apparition du syndrome d'œdèmes entraîne parfois la guérison de celui-ci. Mais, dans d'autres cas, les œdèmes sont l'élément principal du tableau clinique et doivent avoir leur traitement propre, ainsi que lorsqu'ils restent le seul élément morbide, après avoir été associés à un autre facteur. Le pronostic des syndromes d'œdèmes secondaires est beaucoup plus grave que celui des œdèmes carentiels purs. De nombreux cas d'œdèmes révélés ont été constatés au décours de maladies palustres et de typhus, et d'affections subaiguës, ulcérations cutanées étendues, broncho-pneumonies.

3° *Formes associées à d'autres manifestations cliniques d'avitaminoses.* — Un certain nombre de sujets miséreux soumis à une alimentation déséquilibrée comportant comme élément de base du maïs, ont présenté au décours de syndromes d'œdèmes, des lésions cutanées présentant les caractères cliniques de pellagre, lésions n'apparaissant qu'aux territoires cutanés exposés au soleil, pigmentation anormale, desquamation, atrophie cutanée, passage à la chronicité des lésions.

Caractères biologiques.

1° *Caractères hématologiques, cytologiques et chimiques.* — Les recherches pratiquées ont été moins nombreuses que nous ne l'aurions désiré par suite de difficultés matérielles. En particulier, la protéinémie, la glycémie et la lipidémie des sujets n'ont pas été étudiées.

L'azotémie a été normale dans les cas où elle a été titrée. Quant à l'albuminurie, elle faisait défaut toujours.

Les liquides d'épanchements, pleuraux ou ascitiques, étaient citrin clair ou presque incolores, ne coagulant pas à l'air, pauvres en éléments cellulaires (monocytes et lymphocytes).

Dans les syndromes carentiels purs, il n'y a pas d'anémie, le taux d'hémoglobine reste aux environs de 80 à 90 o/o, la formule sanguine montre une polynucléose variant entre 80 et 90 o/o.

2° *Caractères anatomo-pathologiques.* — L'étude anatomo-pathologique n'a pratiquement pas pu être faite, le nombre d'au-

topsies ayant été limité par l'obligation de respecter en général les lois musulmanes ; et en outre l'examen microscopique n'ayant pu être fait par suite d'événements fortuits.

Hajjo Youssef, âgée de 45 ans environ, fait un syndrome d'œdèmes sans albuminurie ni azotémie qui débute en mars 1939 après un typhus, au cours duquel le Weil-Felix a été positif à 1/500. Après des alternatives d'augmentation et de diminution des œdèmes, la malade meurt malgré l'essai de différentes thérapeutiques et de régimes alimentaires appropriés. L'examen du cadavre montre un sujet à la face et au thorax squelettiques ; un abdomen légèrement distendu, la paroi n'étant pas œdématiée ; un œdème léger de la paroi des deux membres inférieurs et supérieurs très amaigris ; un œdème important des jambes et du dos des pieds. Les plèvres adhèrent à la paroi par endroits ; elles en sont facilement décollées. Il n'y a pas d'épanchement pleural, mais quelques flocons de fibrine par places. Poumons normaux macroscopiquement. Pas d'épanchement péricardique. Le cœur est libre dans la poche péricardique, mais couvert uniformément par un péricarde viscéral fibrineux et gélatineux. Des flocons de fibrine sont libres dans la cavité péricardique. Le cœur est petit, le myocarde est rouge, mou ; les valvules sont normales. L'ouverture de l'abdomen montre l'existence d'une ascite importante faite d'un liquide citrin avec des flocons de fibrine en suspension. Les anses intestinales blanches donnent l'impression d'avoir été lavées. Le foie est légèrement hypertrophié, brun rouge, ferme à la coupe. La rate, petite, pèse 60 g. ; couverte d'une capsule gris cendré, sa coupe montre un parenchyme couleur lie de vin, ferme. Les reins sont mous, roses ; le rein droit pèse 120 g. Les pyramides se dessinent nettement et sont fermes à la coupe. La capsule rénale se détache facilement. Tout le rein est entouré d'une couche gélatino-fibrineuse qui pénètre dans le rein avec le pédicule rénal.

Enfin, l'incision de l'aponévrose jambière laisse voir les masses musculaires flotter dans un liquide citrin analogue à celui contenu dans les séreuses viscérales.

Macroscopiquement, le processus d'œdèmes est donc affirmé non seulement par la polysérite, mais par l'existence de cette exsudation générale au niveau de tous les espaces conjonctifs du corps, spécialement entre les faisceaux musculaires, où l'examen donne souvent l'impression d'une fluctuation.

Les lésions macroscopiques étaient, chez les autres sujets autopsiés, avec une intensité plus ou moins accusée, analogues à celles indiquées ci-dessus. Toutefois, le dessin du parenchyme rénal n'était pas toujours normal macroscopiquement, les deux zones normales étant impossibles à différencier.

Essai d'étude des anomalies de la ration alimentaire d'un habitant du Draa.

Un Draoui non miséreux fait, au décours d'une affection quelconque, un syndrome d'œdèmes analogue à celui de sujets présentant

une carence alimentaire évidente. Que manque-t-il donc à la ration alimentaire normale d'un « Draoui moyen » ? s'il y a précarence, quelle peut-elle être ?

Les *repas de la journée* sont au nombre de trois.

Le matin au lever : une soupe d'orge, avec ou non des légumes.

Au milieu du jour : de la kesra d'orge, trempée ou non dans de la graisse ou de l'huile (exceptionnellement) ; des dattes, pendant une partie de l'année, tant que la provision n'est pas épuisée ; du thé (donc du sucre) ou non. Chez les sujets plus riches, à la kesra s'ajoute l'aïch (couscous d'orge) avec ou non des légumes.

Le soir : l'aïch (couscous d'orge) avec ou non des légumes (oignons en particulier, navets ou choux ou carottes, six mois par an, parfois plus longtemps).

A ceci s'ajoute chez les gens aisés : une fois par semaine, de la viande (de mouton le plus souvent), le jour du souk hebdomadaire. Beaucoup, par contre, ne mangent de la viande qu'exceptionnellement. Du poulet, des laitages de chèvre parfois varient la ration. Enfin, il ne faut pas oublier les piments en plus ou moins grande quantité.

La ration journalière d'orge de chaque individu semble être de 350 g. environ (une abra d'orge par semaine, soit 12 kg. environ pour une famille de cinq, dont 3 enfants ; deux abras d'orge pour une famille de neuf, dont 5 enfants).

L'eau que boivent les draoua est puisée dans les puits du pays. Le plus souvent elle est riche en calcium et en magnésium et en chlorure de sodium. Ainsi les taux en milligrammes ont été pour trois puits de :

Chlorures	239	154	454
Calcium	222	186	266
Magnésie.	131	94	180

La ration alimentaire d'un habitant du Draa est donc uniforme au cours du temps et inférieure quantitativement à la normale. La base de l'alimentation est l'*orge*, agrémenté d'autres aliments peu nombreux et surtout de *dattes*. Or, la teneur pour 100 g. d'orge est (Randoin) de :

	Grain d'orge	Orge perlé			
			Vitamine A	0	0
			» B^1	*80 U. I.*	0
			» B^2	*100 U. Bourquin*	0
Protides. . . .	9,8	8,5			
Lipides	1,9	1,1	» C	0	0
Glucides. . . .	67	77,8	» D	0	0

De façon générale, l'indigène consomme de l'orge brut non perlé. Dans l'alimentation équilibrée normale, le rapport $\frac{\text{protides}}{\text{glucides}}$ doit être voisin de $\frac{1}{4,5}$, en considérant par exemple les chiffres de la ration normale d'entretien indiqués par Desgrez et Bierry :

		Origine animale	Origine végétale
Protides	88 dont	52	36
Lipides	75 »	75	0
Glucides	415 »	15	400

En outre, le rapport $\frac{\text{protides d'origine animale}}{\text{protides d'origine végétale}}$ doit être voisin de $\frac{1}{2}$ ou au moins de $\frac{1}{1,5}$.

Pour l'aliment orge, le rapport $\frac{\text{protide}}{\text{glucide}}$ est voisin de $\frac{1}{7}$ or les éléments qu'un Draoui ajoute à l'orge de sa ration, légumes, sucre ou thé, graisse ou huile, n'y ajouteront que peu de protides. *Le déséquilibre provenant de l'insuffisance des protides est certain et celui par manque de protides d'origine animale non moins évident.*

Qu'ajoute la consommation des dattes à cette ration ? La teneur en éléments énergétiques et en vitamines des dattes est la suivante (Randoin) pour 100 g.

		Vitamine . . .	A = 200 U.
Protides . . .	2 o/o	— . . .	B^1 = 30 U. I.
Lipides . . .	0,9 o/o	— . . .	B^2 = traces
Glucides . .	73 o/o	— . . .	C = 0
		— . . .	D = 0 ou traces

Ainsi la consommation de cet aliment accentuera le déséquilibre par excès de glucides.

Voyons maintenant la nature du facteur *vitamines* dans l'alimentation du Draoui. J'indique dans le tableau ci-après, d'après des chiffres empruntés à Randoin (*Vues actuelles sur le Problème de l'Alimentation*), la teneur en vitamines connues des aliments habituels des Draoua.

La vitamine A sera apportée par les dattes, le piment ; quand la sécheresse n'interdit pas leur culture, par les légumes, courges, choux, navets (feuilles et racines), carottes ; par la graisse et le lait de chèvre.

	A	B^1	B^2	C	D
Orge	0	80 U. I.	100 U. Bourquin	0	0
Dattes	200	30 U. I.	traces	0	0
Thé vert	0	0	0	100 à 150 Ac. ascorbique	0
Courge	1.800	20	40	5	0
Choux	100 à 800	70	200	50	0
Navets :					
Feuille	10.000	30	300	100	0
Racine	20	40	30	30	0
Oignons	0	40	32	20	0
Carottes	3.000	60	60	15	0
Muscle de mouton	0	60	0	0	0
Graisse de bœuf	700	0	0	0	0
Lait Chèvre	140	32	33	115	10
Piment	7.000	7	11	100	0
Huile d'olive	traces	0	0	0	0

La vitamine C sera apportée par le thé vert, le piment, le lait de chèvre ; par les légumes frais, éventuellement, courges, choux, navets, oignons, carottes.

La vitamine D ne sera apportée que rarement, par le foie d'agneau, de bœuf ou de veau, le poulet, les œufs de poule, le lait de vache ou de chèvre.

Enfin, le complexe B sera fourni d'une part, en ce qui concerne l'élément B^1, par l'orge, les dattes, les légumes frais, la viande de mouton, le lait de chèvre, le piment ; pour ce qui est de l'élément B^2, par l'orge, les légumes frais, le lait de chèvre, le piment.

En apparence, il semble donc que les différentes vitamines soient représentées normalement dans la ration normale d'un Draoui. Mais il n'en est pas ainsi : les aliments considérés sont loin de faire partie de la ration régulière d'un « habitant moyen » du Draa, étant donné leur pauvreté générale et les conditions climatiques. Il en résulte *une insuffisance globale certaine de tous les facteurs vitamines*, plus accusée du *facteur C pendant la saison chaude*.

Le facteur le plus important à considérer, étant donné la richesse en glucides de la ration, est le facteur B. Il est admis que la quantité de facteur B doit être à la fois proportionnelle à la quantité de glucides ingérés et à la quantité totale de la ration. En particulier, le besoin en vitamines B^1 a été fixé à 300 U. I. par jour (Randoin et Simonnet). Or, la quantité de vitamines B^1 apportée par 100 g. d'orge non perlé pour l'utilisation nutritive des 67 g. qu'ils comportent, est de 80 U. I. La consommation de cet orge ne peut donc être considérée comme facteur d'avitaminose B et comparée à celle du riz décortiqué.

En fait, la complexité des avitaminoses B doit être liée à celle

des facteurs B non encore définitivement isolés. JAVILLIER distingue :

— Le facteur B^1, aneurine, antinévritique.

— Le facteur B^2, hydrosoluble, de croissance et d'utilisation des glucides (lactoflavine). Noter que les céréales sont pauvres en flavines.

— Le facteur B^3, vitamine d'utilisation cellulaire.

— Des facteurs B^4 et B^5.

— Le facteur B^6 qui guérit la dermatite du rat.

Le complexe B étant ainsi dissocié, nous ne savons plus si la ration d'un Draoui comporte en quantité suffisante chacun de ces éléments. Et n'oublions pas, enfin, que la *vitamine P. P.* ne doit pas être très importante dans la ration normale du Draoui. Car il a suffi d'adjoindre du maïs un certain temps à la ration alimentaire des miséreux du pays pour voir apparaître de la pellagre.

En résumé, si le déséquilibre alimentaire des habitants du Draa est constant et caractérisé par une insuffisance très accusée des protides surtout d'origine animale, les avitaminoses sont périodiques et globales, plus marquées toutefois en facteurs C et D qu'en facteurs B^1 et B^2.

Traitement.

Le traitement comporte deux éléments :

1° Le traitement symptomatique, médication déplétive rénale, évacuation des épanchements, tonicardiaques, ouabaïne en particulier. Le traitement de la maladie de révélation s'il y a lieu.

2° Le retour à une ration équilibrée et non carencée, soit modification seule de l'alimentation, soit modification associée à une vitaminothérapie ou à une thérapeutique par les acides aminés.

La modification seule de l'alimentation (ajouter de la viande et du *citron* à la nourriture normale) a suffi à guérir bien des malades.

Par contre, les vitamines synthétiques n'ont pas amélioré beaucoup de malades, qu'il se soit agi de vitamine B^1 (aneurine), vitamine B^2 (lactoflavine) ou acide ascorbique. La vitamine C a eu une action indiscutable sur les œdèmes, entraînant une fonte rapide des œdèmes ; mais le malade mourait le plus souvent dès ce résultat obtenu.

Par contre le traitement par l'histidine et le tryptophane (injections sous-cutanées de 10 cg. 1 jour sur 2) a paru donner de réels succès.

Le traitement à l'insuline a été essayé, sans résultat.

L'opothérapie thyroïdienne n'a pas été employée.

Conclusions

En résumé, les syndromes d'œdèmes du Draa comportent une étiologie alimentaire indiscutable, quelles que soient leurs conditions d'évolution. Ils constituent un chapitre spécial de pathologie marocaine et sont intéressants au point de vue pathologie générale comparée étant donné leur parenté clinique certaine avec les syndromes analogues constatés dans les pays d'Extrême-Orient ou d'Afrique Centrale, syndromes survenant chez des sujets dont les aliments de base sont cependant différents de ceux des Draoua.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES ÉRYTHRODERMIES TOXIQUES CONSÉCUTIVES A L'USAGE IMMODÉRÉ DES ARSENICAUX ORGANIQUES

Par A. SICÉ, Ch. ROBIN et L. BROCHEN

Les érythrodermies toxiques provoquées par l'emploi abusif des arsenicaux organiques, en particulier du stovarsol, n'ont guère été rencontrées parmi les autochtones de l'Afrique noire. Nous en apportons ici 3 observations : l'une d'elles intéresse un Européen présent en Afrique.

Observation I. — C..., Sergent-Chef, en service au Soudan Français, consulte le 1er février 1939 pour une éruption généralisée, prurigineuse, ne s'accompagnant pas de fièvre, qu'il a constatée le matin même. Il nous est adressé, le 2 février, en vue de la recherche de la réaction de Bordet-Wassermann.

Ce malade n'est pas à son premier séjour colonial : il a servi au Gabon où il a contracté le paludisme ; au Sénégal, puis au Niger, actuellement au Soudan. Indemne de tout accident syphilitique, il n'a jamais été traité pour cette infection.

Pendant son précédent séjour au Niger il a, de son plein gré, pour se préserver des atteintes du paludisme, substitué l'usage du stovarsol à celui de la quinine et, avec régularité, pendant plus d'une année, il en prenait 2 à 3 comprimés par semaine.

A son retour en France il continua à recourir au stovarsol, pour des troubles divers : diarrhée, maux de tête, etc...

Le 28 décembre 1938, il arrive au Soudan. Depuis cinq mois il a abandonné le stovarsol, mais, le 31 janvier, vers 16 heures, il en prend un comprimé.

Il passe une nuit agitée, se réveille au matin sans malaise bien défini, constate aux flancs l'apparition d'un léger prurit qu'il attribue à la

contention de la ceinture de son pantalon. Un de ses camarades lui fera remarquer l'éruption qui l'amène à la consultation.

On constate, en effet, en différentes parties du corps, sans distribution topographique systématisée, des plaques érythémateuses de dimensions très variables (pièce de 50 centimes à une paume de main). Elles sont surtout nombreuses dans les régions dorsale, fessière, le tiers supérieur des cuisses. Leur pourtour est irrégulier, mal délimité. Elles ne disparaissent pas à la vitropression. On ne note à leur niveau aucune desquamation, aucune infiltration du derme, ni œdème, ni trouble de la sensibilité. Ces plaques sont prurigineuses. A la face, le bord des paupières est renforcé d'un liseré rouge vif, très prurigineux.

Nous ne pouvons déceler nul autre trouble organique après examen de l'ensemble des appareils.

Une numération globulaire montre :

Globules rouges . . .	4.800.000 par mm³
Globules blancs . . .	5.100 —

Taux d'hémoglobine : 90 o/o.

Formule leucocytaire :

Poly-neutrophiles	76
Poly-éosinophiles	5
Grands monos	8
Moyens monos	8
Lymphos	3

A retenir l'élévation du pourcentage des polynucléaires et la présence de 5 éosinophiles.

Examen des urines et des matières fécales : négatif.

Réaction de Hecht et de Kahn : négative.

Observation II. — A. G..., jeune indigène âgé environ de 25 ans, originaire du Soudan qu'il n'a pas quitté, de race Bambara. Envoyé en consultation pour des taches hyperchromiques disséminées sur tout le corps.

A constaté, pour la première fois, en octobre 1938, une éruption constituée par des plaques, de teinte noire foncée uniforme, à pourtour irrégulier, se continuant sans transition avec l'épiderme sain. Leur dimension variait d'une pièce de 50 centimes à celle d'une paume de main. Certaines, par leur confluence, dessinaient des placards étendus surtout au niveau des creux axillaires et des plis inguino-cruraux.

Ces plaques se sont d'abord manifestées au pli du coude, puis au pourtour des lèvres et des yeux. Il ressentait en même temps un malaise fébrile, sur l'évolution duquel il ne fournit aucune précision n'ayant pas pris sa température, enfin accusait un prurit insupportable dans la journée et surtout la nuit. Trois semaines plus tard, il constatait la production de nouvelles taches, de même nature, sur le thorax et dans l'aisselle gauche. Quelques jours après, la fièvre et le prurit auraient disparu.

Dans les antécédents, aucun accident syphilitique. En juillet 1937, le sujet, qui était alors à Koutiala, a présenté des troubles dysentériques sans pouvoir obtenir un examen microbiologique de ses selles. Il a été soumis à l'action de l'émétine (5 à 6 injections, dit il, à doses inconnues de lui). Ce traitement ne l'ayant pas amélioré, il prend, au début de septembre 1937, quotidiennement, 4 comprimés de stovarsol, dosés à 0 g. 50,

pendant 5 jours consécutifs, puis 2 comprimés, par jour, pendant 15 jours. Il aurait depuis conservé l'habitude, jusqu'à fin janvier 1938, de recourir chaque semaine, pendant 4 à 5 jours à l'usage du stovarsol (1 à 2 comprimés).

De la fin de janvier jusqu'au mois d'octobre 1938, époque d'apparition des taches, il se contente, une à deux fois par semaine, d'un à deux comprimés. A cette époque préoccupé par la persistance de ses taches, il se rend à San où il lui est prescrit de la quinine associée à de la præmaline et la potion de Guillon pour combattre la diarrhée dont il souffre ; il continue l'usage du stovarsol.

Il observe alors, coïncidant avec les prises de stovarsol, une exagération, à la fois, de la pigmentation des plaques et du prurit. De la fin de novembre 1938 au mois de janvier 1939 il abandonne ses cures : le 20 janvier, il avale un comprimé de stovarsol et ressent au niveau de ses taches hyperchromiques un très vif prurit.

Actuellement, l'aspect de ces plaques ne s'est guère modifié, elles sont d'un noir mat, à leur niveau on ne constate ni infiltration, ni œdème, nul trouble de la sensibilité très bien conservée, absence de toute desquamation. Leur nombre est assez restreint : plaques discrètes à la face circonscrivant le pourtour des lèvres et des yeux, dessinant les ailes du nez, éparses sur les avant-bras et formant placard étendu au pli du coude, aux plis inguinaux cruraux, elles sont rares sur le thorax, l'abdomen et les membres inférieurs.

L'examen des divers appareils, en particulier les systèmes cardio-vasculaire et digestif, sont négatifs. On ne trouve pas de cordes coliques, le foie n'est pas douloureux à l'épreuve de l'ébranlement. Absence d'adénopathies.

La tension artérielle est de 13 × 7 — avec un indice = 5. Le pouls est régulier, bien frappé (70 pulsations à la minute).

Examen de laboratoire : Recherche des hématozoaires négative.

Numération globulaire :

Globules rouges . . .	2.900.000 par mm³
Globules blancs . . .	6.700 —

Formule leucocytaire :

Poly-neutrophiles	29
Poly-éosinophiles	33
Grands monos	7
Moyens monos	22
Lymphos	9

Pas de troubles de la crase sanguine.

Examen des urines : négatif en ce qui concerne la présence de sucre, d'albumine, de pigments et sels biliaires, d'urobiline.

Observation III. — Bak...Dag..., jeune indigène de 24 ans, originaire du Soudan, infirmier de l'équipe mobile de prophylaxie de la trypanosomiase humaine ; hospitalisé le 17 janvier 1939, après évacuation de San, pour « Taches érythémateuses et hyperchromiques ».

Ce malade précise que, de 1926 à 1933, il a été traité à plusieurs reprises par des arsenicaux, pour des manifestations d'hérédo-syphilis tardive. En 1933, quelques heures après une dernière injection de 0 g. 90

d'une cure de 6 g. 20 de novarsénobenzol, il présente d'après la description qu'il en fait, une poussée d'érythrodermie vésiculo-œdémateuse qui aurait assez rapidement rétrocédé. Cette érythrodermie devait laisser à sa suite une pigmentation et cette mélanodermie former, sur ce tégument noir, des taches hyperchromiques qui peu à peu s'estompèrent pour disparaître au bout d'un mois.

En 1935, un épisode dysentérique l'incite à prendre chaque jour 8 à 9 comprimés de stovarsol, pendant 3 semaines. De cette époque, date un usage constant du stovarsol, à raison de 3 à 4 comprimés, pendant 4 à 5 jours par mois. Le 12 mai 1938, il souffre d'un violent accès de fièvre (T. 40°), accompagné de frissons, de céphalée, de courbature généralisée, de vomissements alimentaires puis bilieux. L'examen du sang révèle la présence de schizontes de *P. præcox*. Il est alors soumis à un traitement par la quinine, par voie buccale et intramusculaire Le lendemain, la température est voisine de la normale mais de nombreuses taches noires, très prurigineuses, couvrent la surface du corps, se montrant d'abord aux avant-bras, au niveau des flancs, du thorax, pour s'étendre à tout le corps, sans épargner la face.

Du 15 mai au 30 juin, le malade subit trois nouvelles atteintes de fièvre (T. 39-40°). On ne retrouve plus d'hématozoaires. Il constate qu'au moment des poussées fébriles, la pigmentation des taches s'accroît et il éprouve un prurit insupportable. Il ne peut préciser si cette éruption s'accompagnait d'œdème, de même il n'a pas observé une diminution du volume des urines émises par 24 heures. Ses urines n'ont donné lieu à aucune recherche. Dans l'intervalle des accès de fièvre, la pigmentation des plaques est moins accusée, elles cessent d'être prurigineuses, elles ont une tendance à desquamer.

De la fin de juin jusqu'à son hospitalisation, ces troubles se répètent une à deux fois par mois.

L'aspect de ce malade est caractéristique. Il est couvert d'un nombre considérable de plaques hyperchromiques d'un noir d'ébène mat, au contour irrégulier, les unes isolées de faible dimension, les autres confluentes dessinant de larges placards surtout nets au voisinage des régions articulaires et tranchant sur les îlots d'une teinte noire normale de l'épiderme sain.

Elles accentuent par un large trait noir le pourtour des lèvres et des paupières. Cette hyperchromie en plaques généralisée alternant avec des parties épidémiques saines confère aux téguments du malade l'aspect d'une véritable peau de panthère. A leur niveau, l'épiderme reste souple, ou ne décèle ni œdème, ni infiltration, nulle ligne de démarcation ne les distingue des territoires indemnes ; il n'y a pas de troubles de la sensibilité, pas de prurit actuellement ; certaines desquament légèrement.

L'état général de ce malade laisse à désirer : il est amaigri, prompt à la fatigue, craignant l'effort, à tel point qu'il a demandé à quitter l'équipe mobile dont il relève.

L'examen de ses organes ne montre pas de troubles apparents.

Recherches de laboratoire :

Numération globulaire :

Globules rouges	3.450.000 par mm³
Globules blancs	7.200 —

Hémoglobinométrie : 85 o/o.

Formule leucocytaire :

Poly-neutrophiles	38
Poly-éosinophiles	20
Grands monos	11
Moyens monos	20
Lymphos	11

On constate ici encore, quoiqu'à un moindre degré, l'anémie partielle indiquée par la diminution du nombre des globules rouges ; une variation de la formule leucocytaire, l'éosinophélie, mais le pourcentage des polynucléaires n'est rien moins qu'élevé.

Aucun trouble de la crase sanguine.

Examen des urines : négatif. Recherche de parasites (œufs et kystes) dans les selles : négative.

Réaction de Hecht et Kahn : négative.

Urée sanguine : 0,25 o/oo.

Glycémie : 0,84 o/oo.

Chez ces deux derniers malades, nous avons tenté à l'aide d'une intradermo-réaction faite avec 1/10 de cm^3 d'acétylarsan, sel de diéthylamine du stovarsol, de rechercher l'allergie aux arsenicaux pentavalents.

Le premier : A. G... a montré, 5 à 6 heures après, au point d'inoculation, une papule surélevée, circonscrite par une réaction érythémateuse et œdémateuse des tissus immédiatement voisins. Au bout de 15 à 16 heures, cette réaction était éteinte.

Chez le second : Bak... Dag... nous constations une formation centrale papuleuse à la périphérie de laquelle se retrouvaient les caractères de l'érythème. Quelques heures plus tard, en ce point d'inoculation, s'installait un prurit intense qui gagnait toutes les plaques hyperchromiques.

Ce malade quittait l'hôpital, le 11 mars 1939, avec un état général amélioré nettement. Mais malgré les traitements suivis, parmi lesquels figurait l'hyposulfite de soude, la mélanodermie conservait toutes ses localisations et la netteté de ses caractères.

En marge des accidents toxiques provoqués par les cures arsénobenzéniques, les 3 observations ci-dessus rapportées montrent, à des degrés divers et sous des aspects peu différents, des manifestations du même ordre, succédant à l'usage immodéré du stovarsol.

Erythrodermie légère chez l'européen (*obs. 1*), plus marquée chez A. G... (*obs. 2*), grave dans l'*obs. 3*. On trouve, dans les trois cas, les termes essentiels du syndrome : l'inflammation des téguments, à laquelle succèdent des placards hyperchromiques prurigineux ; la généralisation de l'éruption à l'ensemble des téguments ; une desquamation sèche en lamelles (*obs. 3*) ; la longue durée des lésions ; — une anémie partielle qui peut être notable (*obs. 2*) ; des variations de la formule leucocytaire : légère poly-

nucléose (*obs. 1*), éosinophilie (*obs. 1, 2, 3*) qui a retenu l'attention de G. Milian dans l'intoxication arsénobenzénique ; des troubles généraux enfin : lassitude, apathie, amaigrissement et même fièvre.

APPLICATION DU TEST *PROTEUS* A LA RECHERCHE, DANS L'URINE, DE L'ACIDE NICOTINIQUE ET DE SES DÉRIVÉS (*)

Par Mlle C. LATASTE

Un test bactérien a été proposé par Fraser, Topping et Sebrell (1), pour la recherche de l'acide nicotinique dans l'urine. Après l'étude de la nicotinamidémie normale et pathologique, pour laquelle la méthode utilisant le test *Proteus* s'est révélée une technique de choix, il nous a semblé intéressant d'appliquer ce test bactérien à la recherche de la nicotinamide dans l'urine.

Après ingestion de composés pyridiniques, quatre corps conjugués ont été retrouvés, par voie chimique, dans l'urine : la trigonelline et l'hydroxyde de N-méthyl-pyridylammonium (His (2), Abderhalden (3), Ackermann) (4), l'acide nicotinurique (Cohn (5), Ackermann), l'acide nicotinique (Cohn, Vilter (6)), et la nicotinamide (Vilter).

Dans un précédent travail, Lwoff et Querido (7) ont discuté la spécificité du test *Proteus* proposé par Fildes (8) et montré que certains dérivés de l'acide nicotinique étaient utilisés pour la croissance de la bactérie, mais seulement à des concentrations très supérieures à la concentration limite des composés les plus actifs, comme l'acide et son amide. Parmi les corps présents dans l'urine, si la bétaïne de l'acide nicotinique (que ces auteurs ont essayé à l'état de chlorure) est inactive, le nicotinate de glycine (l'acide nicotinurique) n'agit qu'à une concentration cent fois plus forte que la nicotinamide.

Il faudra tenir compte de la concentration relative et de la valeur quantitative, comme facteur de croissance, des différents dérivés de l'acide nicotinique de l'urine, pour comparer les résultats obtenus au moyen du test *Proteus* avec ceux des différents tests chimiques proposés (Karrer et Keller (9), Vilter, Spies et Mathews, Swaminathan (10), Kringstad et Naess (11), Bandier et Hald (12). Ceci

(*) Cette note est un travail préliminaire à l'étude des avitaminoses exotiques.

n'a pu être encore fait, mais on verra que l'application du test *Proteus* à l'étude de l'urine fournit des données utiles.

Nous avons utilisé la méthode précédemment indiquée par Lwoff et Querido, qui a déjà recu son application au sang (Querido-Lwoff-Lataste (13)). Rappelons que la courbe du sang ne passe pas par le zéro.

En appliquant la méthode à l'étude de l'urine, nous avons rencontré plusieurs difficultés.

Nous avons d'abord constaté que le vieillissement de l'urine à la température du laboratoire, provoquait une augmentation de la concentration en facteur de croissance pour le *Proteus*. Un même échantillon d'urine stérilisée par filtration sur bougie Chamberland L_3, nous ayant donné, au bout de 24 heures, une densité optique de culture égale à 10,4, nous a montré après 4 jours : 13,6, après 8 jours : 23, et après 10 jours : 26.

Nous avons alors étudié systématiquement l'action de la température sur plusieurs échantillons d'urines. Les résultats sont exprimés dans le tableau suivant en pourcentages d'augmentation :

6° 5 jours	37° 4 jours	100° 30 min.	120° 20 min.	120° 40 min.	130° 1 heure	130° 3 heures	130° 5 heures
0	53,5 o/o	33 o/o	313 o/o	446 o/o	927 o/o	1.134 o/o	1 020 o/o

Aucune augmentation n'est donc décelable si l'urine est conservée à 6°. A plus haute température, il s'agit vraisemblablement d'une hydrolyse des combinaisons urinaires de l'acide nicotinique ou de son amide, et cette hydrolyse, pour les corps qui nous intéressent, est complète, après 3 heures, à 130°. Sur cinq échantillons d'urines différentes, nous avons pratiqué des essais d'hydrolyse en milieu acide et alcalin pendant le même temps de chauffage ; l'hydrolyse acide (2 o/o HCl), à chaud, a donné, par rapport à l'hydrolyse à chaud simple, des augmentations de 1° 0 o/o, 2° 7 o/o, 3° 21 o/o, 4° 6 o/o et 5° 17 o/o, l'hydrolyse alcaline (2 o/o NaOH), des diminutions de 1° 54 o/o, 2° 25 o/o, 3° 61 o/o, 4° 59 o/o et 5° 99 o/o. Si l'hydrolyse alcaline est nettement défavorable, l'hydrolyse acide n'est qu'à peine préférable à l'hydrolyse à chaud simple. Nous avons vérifié qu'en milieu acide un chauffage plus court, de 20 minutes à 130°, n'hydrolysait pas complètement. L'acidification préalable d'une urine alcaline et le chauffage de 3 heures à 130°, en tubes scellés, sont donc les conditions de l'hydrolyse totale.

Il faut noter que l'acide nicotinique en solution pure n'est pas

altéré par la même action thermique quelle que soit la réaction de la solution; dans deux essais successifs nous avons obtenu, pour une même quantité d'acide nicotinique : 13,5 et 13,8 en milieu neutre, 13,7 et 13 en milieu acide, 14,5 et 13,5 en milieu alcalin. Nous avons, par ailleurs, contrôlé que semblable traitement n'attaquait pas le chlorure de trigonelline et ne pouvait pas le convertir en substance utilisable comme facteur de croissance pour *Proteus*.

Etude de l'urine fraîche. — La croissance du *Proteus* en fonction des diverses quantités d'urine fraîche ne s'inscrit pas sur une droite, mais sur une courbe à inflexion des types U_1 et U_2 du graphique. Le développement de la bactérie est freiné pour des concentrations faibles d'acide nicotinique de l'urine. Nous avons constaté que cette zone de faible croissance n'est pas liée à une quantité fixe de l'urine que nous supposions toxique pour la bactérie, mais que cette zone se retrouve, suivant les urines, pour des dilutions très différentes, parfois très grandes. On pourrait interpréter cette anomalie par l'hypothèse d'une action minime, comme facteur de croissance, des dérivés de l'acide nicotinique. acide nicotinurique par exemple; et il faut admettre, étant donnée l'inflexion de la courbe, que le développement microbien peut, lorsqu'il atteint une certaine intensité (25 à 35 de densité optique), transformer ce dérivé en acide nicotinique beaucoup plus actif. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons ajouté, à une urine, 1/5 de son volume de filtrat d'une vieille culture de *Proteus*, carencée en acide nicotinique, et nous avons maintenu le contact pendant 4 jours à 37°; la courbe obtenue est alors une droite passant par le zéro, cependant que la même urine témoin donne la courbe à inflexion. On peut dire que le *Proteus* sécrète une substance susceptible de transformer un facteur de croissance peu actif en facteur plus actif. Nous avons naturellement vérifié que le filtrat ne renfermait pas de facteur de croissance.

La courbe (fig. 1), telle qu'elle est obtenue directement, se prête mal à une appréciation quantitative. L'ascension de la courbe qui suit l'inflexion correspond à une zone de proportionnalité, et la droite issue du o se confondant avec la courbe dans cette région de proportionnalité, pourrait permettre une évaluation. Chez 5 sujets sur 6, normaux, cette portion de la courbe se place entre des densités optiques de culture de 40 à 60 pour des dilutions d'urine normale allant du 1/100 au 1/40. Chez des sujets hyponicotinamidémiques ou soumis à un régime pauvre en nicotinamide, cette portion de la courbe ne se retrouve que pour des dilutions d'urine beaucoup moins grandes : 1/25-1/10; chez des sujets en cours de traitement (nicotinamide : 100 mg. *p. d.*) (*) pour des

(*) Nous avons utilisé le « Nicobion » aimablement mis à notre disposition par la Maison Lematte et Boinot.

dilutions assez grandes : 1/200-1/400. Il fallait donc, pour saisir cette zone de stricte proportionnalité, effectuer de nombreuses dilutions d'urine et dresser la courbe caractéristique de chaque urine. Nous avons alors essayé de « corriger » la courbe.

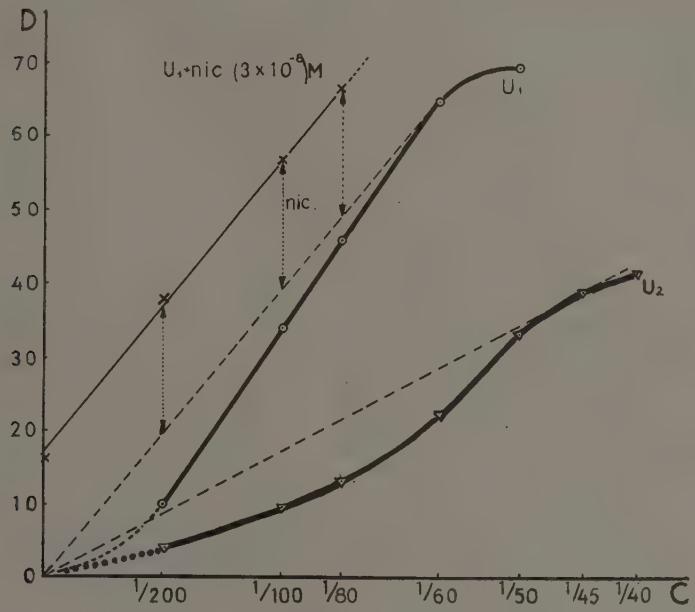

Fig. 1.

C = concentration de l'urine.
D = densité optique des cultures exprimée par la graduation de l'électrophotomètre de Meunier (1 unité correspondant à une variation de densité optique de 0,005 pour une lumière filtrée de λ moyenne efficace de 0,55 μ environ. Epaisseur utile de la cuve : 10 mm.).
U_1 = courbe d'une urine normale de 24 heures : Q. ♂.
U_2 = courbe d'une urine normale de 24 heures : La. ♀.
U_1 + nic 3×10^{-8} M = courbe du mélange urine ♀ + nicotinamide 3×10^{-8} M.
nic = densité optique de la culture correspondant à une concentration en nicotinamide 3×10^{-8} M.
Traits discontinus ---- = courbes théoriques ; on remarquera que la courbe théorique de U_1 se confond avec la parallèle à la courbe (U_1 + nic 3×10^{-8} M) et qu'elle est distante de cette dernière de la valeur propre de la culture donnée par la nicotinamide.

L'addition, à l'urine, d'une quantité connue de nicotinamide, donne une droite parallèle à la courbe théorique de la nicotinamide. L' « augmentation apparente » n'est plus, comme pour le sang, décroissante avec la concentration du produit biologique,

mais variable, passant par un maximum puis diminuant pour devenir égale à 0 ; en ce dernier point, on retrouve exactement la quantité de nicotinamide ajoutée et la droite tracée de ce point au zéro du graphique est parallèle à la droite (nicotinamide + urine), équidistante de la valeur représentant la nicotinamide ajoutée. Cette droite passant par le 0 se confond avec la courbe de l'urine seule dans la zone de proportionnalité, avec une marge d'erreur d'environ 5 à 10 0/0 dans le cas de la courbe U_1 du graphique (voir Figure I).

Il nous reste à expliquer cette action « révélatrice » de l'addition de nicotinamide : nous l'entrevoyons comme le facteur du développement microbien minimum indispensable à la transformation de certaines combinaisons urinaires peu actives en acide nicotinique très actif.

Technique. — Cela nous conduit à proposer une technique très simplifiée pour le dosage de l'acide nicotinique dans l'urine : les différents prélèvements des urines de 24 heures, conservés à la glacière, sont rassemblés, mesurés, et une portion aliquote est stérilisée par filtration sur bougie Chamberland L_3. Une quantité connue de nicotinamide voisine, par exemple, de 3×10^{-8} M, qui donne une culture de densité optique de 13 à 16, est ajoutée à une dilution d'urine choisie de telle façon que le développement microbien total, dans les conditions habituelles (milieu, température, ...) de la méthode de Lwoff et Quérido, reste inférieur à une densité optique de culture de 40 (dilution 1/100 pour l'urine normale).

Trois témoins sont constitués : *a*) milieu additionné de la dilution d'urine, non ensemencé ; *b*) milieu + nicotinamide, ènsemencé ; *c*) milieu, non ensemencé. Le témoin *a* donne à l'électrophotomètre de Meunier la valeur de l'absorption de base. De la densité de culture lue pour le mélange d'urine et de nicotinamide, on déduit la valeur de l'absorption de base et la valeur de culture donnée par la nicotinamide seule : $(b - c)$. On obtient ainsi la concentration en nicotinamide de l'urine à la dilution choisie.

Dérivés nicotiniques de l'urine. — L'expérience montre que, pour l'urine chauffée, on obtient une droite qui passe parfois par le zéro mais coupe souvent l'axe des abscisses en des points variables avec les urines, correspondant à des concentrations en nicotinamide de : 0,05-0,15-0,08-0,07 γ pour 100 cm³. L'erreur du dosage pouvant, même dans le cas de l'urine chauffée, être importante, nous conseillons d'effectuer le dosage de l'acide nicotinique total, comme celui de l'acide et de l'amide libres de l'urine fraîche, en ajoutant une quantité connue de nicotinamide à une dilution convenablement choisie d'urine chauffée à 130° pendant 3 heures (1/600 pour l'urine normale).

Nous résumons dans le tableau suivant les résultats obtenus par l'application de cette méthode soit chez des sujets normaux, soit chez des sujets en cours de traitement par la nicotinamide ou soumis à un régime pauvre en acide nicotinique.

Sujets	Ac. nicot. « libre » γ p. 1000 cm³	Ac nicot. et dérivés (après chauffage à 130°) γ p. 1000 cm³	Ac. nicot. « libre » γ *p. d.*	Ac. nicot. et dérivés (après chauffage à 130°) γ *p. d.*	Rapport Ac. nicot. « libre » / Ac nicot. et dérivés
L. ♂	648		650		
La. ♀	424	2.400	411	2.328	5,6
N. ♀	606	2.750	727	3.300	4,5
Ed. ♂	660	3.750	924	4.990	5,4
Q. ♂	1.160	6.100	920	4.880	5,2
C. ♀	1.070		802		
M. ♀	295	2.200	472	3.520	7,5
L. (*) ♂	2.220	4 080	*2.220*	4.080	*1,9*
La. (**) ♀	430	2.760	507	3.257	6,4
La. (***)	735	6 500	*352*	3.120	*8,8*

(*) Le sujet a ingéré 100 mg. de nicotinamide par jour pendant 8 jours.
(**) Sujet normal.
(***) Le même sujet (**) soumis pendant 4 jours à un régime pauvre en nicotinamide : riz, pruneaux, beurre.

L'élimination d'acide nicotinique, ainsi évaluée au moyen du test *Proteus*, est relativement faible ; les valeurs trouvées par nous : 3 à 5 mmg. *pro die*, sont notablement inférieures à celles données par Vilter, Spies et Mathews : 25 à 50 mmg. *pro die*.

Par leur méthode ces auteurs dosent comme nous-même l'acide nicotinique et son amide et ne dosent pas la trigonelline. L'acide nicotinurique donne vraisemblablement une réaction colorée avec le 2-4 dinitrochlorobenzène (Vilter). Nous avons dosé l'activité d'une solution d'acide nicotinurique comme facteur de croissance pour le *Proteus*. Lwoff et Querido ont établi comme limite : 10^{-6} M ; les mesures de croissance nous ont montré que, pour une concentration en acide nicotinurique de 10^{-5} M, la densité optique de culture est 165 fois moins grande que pour une quantité équimoléculaire de nicotinamide. D'autre part, après chauffage de la solution d'acide nicotinurique pendant 3 heures à 130°, la densité optique s'accroît de 50 o/o seulement. Cette légère hydrolyse de l'acide nicotinurique ne semble donc pas pouvoir expliquer, à elle

seule, l'augmentation trouvée dans l'urine chauffée. Il reste toutefois la possibilité d'une hydrolyse plus complète en présence d'urine. La divergence de nos résultats et de ceux de Vilter, Spies et Mathews peut tenir au fait que le test *Proteus* ne décèle que 1/165 de l'acide nicotinurique, mais il nous semble qu'il existe, dans l'urine, une substance qui n'est ni la trigonelline ni l'acide nicotinurique, et qui est transformée par le chauffage en substance active pour le *Proteus*.

Il est intéressant de noter, dans le tableau ci-dessus, que la teneur en acide nicotinique total (acide nicotinique + conjugués hydrolysables) a la même valeur chez des sujets différents et n'est pas sensiblement influencée par l'ingestion de nicotinamide ni par un régime pauvre en nicotinamide, cependant que la teneur en acide nicotinique et nicotinamide libres, qui se montre plus variable chez les sujets normaux est nettement influencée par le traitement ou le régime.

Fraser, Topping et Sebrell ont étudié l'influence de l'urine de chien normal et pellagreux sur le développement de *Shigella paradysenteriæ*. Les résultats obtenus avec ce test, dans les conditions où les auteurs l'ont utilisé, sans tenir compte, en particulier, des variations possibles de composition de l'urine avec le vieillissement, devront être revisées.

Résumé et conclusion

Le développement du *Proteus* en fonction de l'urine considérée comme source de nicotinamide a été étudié.

La courbe du développement du *Proteus* en présence de l'urine fraîche n'est pas une droite. Le défaut de proportionnalité observé peut être corrigé par l'addition de nicotinamide. On peut ainsi doser à 5 ou 10 o/o près la teneur de l'urine en facteur de croissance, exprimée en nicotinamide.

Par vieillissement et surtout par chauffage à 130°, des substances susceptibles de servir de facteurs de croissance pour le *Proteus* sont libérées.

La valeur de l'excrétion quotidienne de l'amide et de l'acide libres sont, chez l'homme normal, de 0,5 à 1 mmg. La valeur totale après hydrolyse est de 3 à 5 mmg. Cette valeur est très inférieure à celle donnée par les dosages chimiques (Vilter, Spies et Mathews), ceci probablement en partie à cause de la faible activité en tant que facteur de croissance de l'acide nicotinurique non hydrolysable.

Le test *Proteus*, tel que nous l'appliquons à l'urine, est le test spécifique de l'acide, de l'amide et des dérivés nicotiniques hydrolysables de l'urine.

Service de Physiologie microbienne de l'Institut Pasteur de Paris et *Instituts Pasteur d'Indochine.*

Nous sommes redevable de nombreux conseils à MM. André Lwoff et Andreis Querido qui nous ont aidée dans l'exécution de ce travail et que nous sommes heureuse de remercier ici.

Bibliographie

(1) Fraser (H. F.), Topping (N. H.) et Sebrell (W. H.). — *Publ. Health Rep.*, 1938, **53**, p. 1836.
(2) His (W.). — *Arch. für Exp. Path. und Pharm.*, 1887, XXII, p. 235.
(3) Abderhalden (G.) Brahm (C.) et Schilterhelm (A.). — *Hoppe Seyler Zeit. f. Phys. Chem.*, 1909, **59**, p. 32.
(4) Ackermann (D.). — *Ztschrift für Biol.*, 1912, **59**, p. 17.
(5) Cohn (R.). — *Hoppe Seyler Zeit. f. Phys. Chem.*, 1894, **18**, p. 112.
(6) Vilter (S. P.), Spies (T. D.) et Mathews (A. P.). — *Journ. Biol. Chem.*, 1938, vol. 125, n° 1, p. 85.
(7) Lwoff (A.) et Querido (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **129**, p. 1039 ; 1939, **130**, p. 1569.
(8) Fildes (P.). — *Brit. Journ. Experim. Pathol.*, 1938, **28**, p. 239.
(9) Karrer (P.) et Keller (H.). — *Helv. Chim. Acta*, 1938, **21**, p. 463.
(10) Swaminathan (M.). — *Nature*, 1938, **141**, p. 830.
— *Ind. Med. Research*, 1938, **26**, p. 427.
(11) Kringstad (H.) et Naess (T.). — *Naturwissenschaften*, 1938, **26**, p. 709.
(12) Bandier (É.) et Hald (J.). — *Bioch. Journ.*, 1939, **33**, p. 224.
(13) Lwoff (A.), Querido (A.) et Lataste (C.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **130**, p. 1580.

Le Gérant : G. MASSON

IMPRIMÉ PAR BARNÉOUD FRÈRES ET Cie A LAVAL (FRANCE)